

Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin-Neukölln
(Chefärztin: Frau Professor Dr. med. Irene Boll)

Kernmessungen an Lipopolysaccharid-Kulturen

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Zahnarzt Ralph Hübner aus Neumünster

1970

Referent : Frau Prof. Dr. med. Irene Boll

Korreferent : Prof. Dr. Hermann Michel

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Zahn-, Mund-
und Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin

Promoviert am : 23. Mai 78

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I EINFÜHRUNG	5
II FRAGESTELLUNG	7
III MATERIAL UND METHODIK	8
IV VERSUCHSERGEBNISSE	13
V ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	40
VI DISKUSSION	42
VII ZUSAMMENFASSUNG	44
VIII ANHANG	45
IX BIBLIOGRAPHIE	85
X NACHWORT	89
XI LEBENS LAUF	90



I EINFÜHRUNG

Lipopolysaccharide, wesentlicher Bestandteil der Zellmembran gramnegativer Bakterien, sind schon lange Gegenstand verschiedenster Untersuchungen.

In den aus abgetöteten gramnegativen Bakterien gewonnenen Zellwandkomplexen, die auch als Endotoxine bezeichnet werden, sind bestimmte Lipoidkomponenten für toxische Wirkungen verantwortlich. Die Artspezifität wird dabei durch die determinanten Gruppen des Polysaccharidanteils bestimmt (23). Parenterale Zufuhr der Endotoxine löst eine Reihe von spezifischen und unspezifischen Reaktionen des Organismus aus. Peavy et al. (21) nennen hier Leukozytose, Fieber, Schock, Schwartzmann-Reaktion, Hemmung der Antikörperbildung, Änderungen in der Gerinnungsfähigkeit des Blutes, Freisetzung von endogenem Pyrogen und Tod.

Als unspezifische toxische Wirkung steht zunächst das Fieber im Vordergrund, weshalb Bakterienendotoxine auch als Pyrogene bezeichnet wurden und werden. Lipopolysaccharid (LPS) von hitzegetöteten Colibakterien oder von Salmonella abortus equi bewirken, intravenös injiziert, beim Menschen eine Fieberreaktion nach einer Latenzzeit von mindestens 40 Minuten. (26, 27) Diese Latenzzeit ist bedingt durch die Beteiligung der neutrophilen Granulozyten an der Fieberentstehung, welche durch das LPS zur Bildung von "endogenem Pyrogen" veranlaßt werden. Erst das endogene Pyrogen bewirkt die Temperatursteigerung. Durch Inkubation von LPS mit Granulozyten kann endogenes Pyrogen auch "in vitro" gewonnen werden. Nach Injektion ruft es eine Fieberreaktion innerhalb von 8 bis höchstens 30 Minuten hervor. Rafter (24) zeigte die Thermolabilität des so gewonnenen endogenen Pyrogens auf und sieht im LPS einen chemischen Bestandteil des neugebildeten endogenen Pyrogens.

Wenn auch der Mechanismus der Entstehung des endogenen Pyrogens heute noch nicht restlos aufgeklärt ist, so stehen heute doch andere Eigenschaften der Bakterienendotoxine bzw. -lipopolysaccharide im Vordergrund der Untersuchungen. Vornehmlich in "in vitro"-Versuchen wird die Wirkung der Präparationen auf kleine, in Ruhe befindliche Lymphozyten untersucht. Dieser Effekt wird auch als Stimulation bezeichnet und drückt sich aus in Zellwachstum, Blastenbildung, DNS-Synthese, Proteinsynthese u.a. in den Kulturen. Stoffe mit diesen Wirkungen auf Lymphozyten werden als Mitogene bezeichnet.

Greaves und Janossy (15) bezeichnen die Wirkung der Mitogene auf die Lymphozyten als nichtspezifisch, weil sie meinen, daß ihr Antigencharakter dabei keine Rolle spielt. Die Zahl der auf ein Antigen reagierenden Zellen, ein Klonus, sei zu klein, um die beobachteten Wirkungen hervorzurufen. Deshalb bezeichnen sie die Vorgänge in den Lymphozytenkulturen als "polyclonal response", die Antwort einer Mehrzahl von Lymphozytenklonen auf den stimulierenden Reiz, das Mitogen.

Jedoch verhalten sich die verschiedenen Mitogene in bezug auf die Unterklassen der Lymphozyten, die T- und B-Zellen, recht unterschiedlich. Oppenheim und Perry (25) haben 1965 schon ver-

schiedene Lipopolysaccharide Leukozytenkulturen zugesetzt und fanden nach 5 Tagen Inkubation bis zu 32,1 % Blasten nach Zugabe einer E.coli-Endotoxinpräparation. In jüngeren Arbeiten wird die Frage, ob Lipopolysaccharide menschliche Lymphozyten stimulieren können, eher negativ beurteilt (15,16,21).

Bei der Maus dagegen stellt das LPS ein eingehend untersuchtes, gut wirksames Mitogen dar (13,15,16,17,21) und wird heute als ein Stimulans der B-Zellen der Mäuse angesehen. Lediglich Elfenbein et al. (13) halten nach Versuchen mit *Salmonella typhosa*-Endotoxin (Difco) und Balb/c-Mäusen LPS für ein T-Zellen-Mitogen bei der Maus. Janossy und Mit. (17) meinen, daß LPS (*E. coli* 055:B5) nur 15 - 25 % der B-Zellen von Mäusen stimuliert. Auffallend ist die unterschiedliche Stimulierbarkeit der Lymphozyten der verschiedenen Mäusestämme. Peavy und Mitarb. (21) kommen hier mit *Salmonella typhimurium* Type 7 Endotoxin zu ähnlichen Ergebnissen wie die Gruppe um T. Diamantstein (11) mit Dextransulfat als Stimulans. Die größte Stimulierbarkeit wurde in beiden Arbeiten bei DBA/2J-Mäusen festgestellt, die geringste bei Mäusen des Stammes Balb/c. Vielleicht ein Hinweis für die Hypothese T. Diamantsteins, daß für die Stimulierung nicht das LPS selber, sondern ein anderer, einfacherer, in der Zellmembran vorhandener Bestandteil verantwortlich ist.

Auch beim Meerschweinchen wurde festgestellt, daß LPS (*Salmonella typhosa* Endotoxin, Difco) B-Zellen stimuliert. (13).

Beim Kaninchen äußern Sheppard et al. (3) die Vermutung, LPS (*Salmonella typhosa*, Difco) könne B- und T-Zellen stimulieren oder aber T-Zellen durch Aktivierung von B-Zellen rekrutieren.

+ + + + +
+ + + +
+ + +
+ +
+

II FRAGESTELLUNG

Die Frage, ob Bakterienendotoxine bzw. -lipopolysaccharide menschliche Lymphozyten stimulieren können, bedarf noch eingehender, endgültiger Klärung. Ebenso die Vermutung, daß, wenn eine Stimulierung stattfindet, sie sich auf die B-Zellen bezieht. Dies wird erschwert durch die Tatsache, daß beim Menschen nicht wie bei der Maus reine, ja standardisierte Quellen von B-Lymphozyten zur Verfügung stehen.

Bisher in dieser Richtung angestellte Untersuchungen können noch keineswegs als erschöpfend gelten, zumal sie sich widersprechen (15,16,21,25).

Um die Stimulierung der Lymphozyten meßbar und damit vergleichbar zu machen, bieten sich verschiedene Verfahren an, die auf den verschiedenen, in den Kulturen ablaufenden bekannten Vorgängen beruhen :

1. Blastenbildung
2. DNS-Synthese
3. Immunglobulinsynthese

Das Auftreten von Blasten (Immunoblasten, IBL) in den Kulturen in einem bestimmten prozentualen Anteil nach einer gewissen Zeit läßt sich ohne weiteres als Maßstab für die stimulatorische Potenz eines Mitogens heranziehen. Nachteilig wirkt sich bei dieser Methode jedoch aus, daß die Differenzierung von Blasten nicht immer sicher ist und von verschiedenen Personen in der Regel wohl auch etwas verschieden gehandhabt wird.

Die Bestimmung der DNS-Synthese durch Messung der Inkorporation von radioaktivem (^3H)-Thymidin wird von den meisten Autoren geübt und kann wohl als die eleganteste Methode angesehen werden, da hier Fehlerquellen durch menschliche Unzulänglichkeit am ehesten ausgeschaltet werden. Nachteil : hoher apparativer Aufwand.

Die Produktion von Immunglobulinen scheint eine Eigenschaft allein der B-Zellen zu sein (15) und läßt sich durch die Messung der Inkorporation von radioaktivem (^3H)-Leucin bestimmen. Eine eventuell vorhandene Stimulation von T-Lymphozyten würde jedoch nicht mitgemessen werden. Zudem auch hier : hoher apparativer Aufwand.

Der der erstgenannten Methode anhaftende grundsätzliche Fehler läßt sich jedoch erheblich verkleinern, wenn man die Tatsache berücksichtigt, daß durch die Stimulation die Zellen und ihre Zellkerne größer werden. Hier ist, gerade durch die Größenmessung (= Durchmesserbestimmung) der Zellkerne mit ihren klaren Begrenzungen, ein zusätzlicher, objektiver Maßstab zur Differenzierung der Zellen gegeben. Da sich diese Methode mit verhältnismäßig einfachen und zudem bewährten Mitteln durchführen läßt, wurde sie gewählt.

III MATERIAL UND METHODIK

8 Patienten mit verschiedenen Systemerkrankungen wurde Venenblut entnommen. Es wurden Blutkulturen mit und ohne LPS-Zusatz angesetzt. Zu verschiedenen Zeiten wurden den Kulturen Proben entnommen und Ausstriche hergestellt.

1. Ansetzen der Kulturen

Das Venenblut wird heparinisiert (Liquemin), mit 2 ml Makrodex auf 10 ml Blut versehen und in Rundgläsern für mehrere Stunden im Brutschrank bei 37° C aufbewahrt. Danach wird der Überstand abpipettiert und die Zellzahl durch Hinzufügen von RPMI-Kulturmedium auf 2000/μl eingestellt. In den Kontrollkulturen kommen 10 ml, in den LPS-Kulturen 5 ml Zellsuspension zum Ansatz. Bakterienwachstum wird durch Zusatz von 3 Tropfen Strepto B verhindert. Lipopolysaccharid Escherichia coli von den DIFCO-Laboratories Detroit/Mich. wird den LPS-Kulturen mit 6 Tropfen der Lösung zugeführt. Die Inkubation selbst erfolgt in 50 ml-Erlenmeyer-Kölbchen mit großer Gasphase.

2. Herstellen der Ausstriche

Zu den entsprechenden Zeitabständen werden den Kulturen Proben entnommen. Sie werden in der Zytocentrifuge (Cytospin, Shandon & Elliotts) während 5 Minuten bei 5000 Umdrehungen/Minute automatisch auf die Objektträger zentrifugiert. Färbung nach PAPPENHEIM.

3. Differenzierung der Zellen

Die lymphozytären Elemente wurden morphologisch folgendermaßen voneinander abgegrenzt :

Lymphozyt	dunkel-rotvioletter, schollig strukturierter, meist runder, selten ovaler oder eingebuchter Kern, spärlich hellblaues Zytoplasma.
stim. Lymphozyt	der Kern ist im Vergleich zum Lymphozyten größer und auflockerter, öfter oval oder länglich, das Zytoplasma weiter und meist basophiler.
Immunoblast	der Kern enthält mindestens einen großen, deutlich ausgebildeten Nukleolus, ist noch lockerer und oft netzig strukturiert, das Zytoplasma ist noch reichlicher vorhanden mit oft gezähntem Umriß, es kann eine oder mehrere Vakuolen enthalten.

In den Ausgangspräparaten der 0. Stunde wurden auch die anderen Elemente der "Weißen Reihe" differenziert. Differenzierung nach BOLL und RIESEN/ALBRECHT.

4. Ausmessen der Zellkerne

Durch das Zentrifugieren entstanden auf den Objektträgern zwei etwa pfenniggroße Bereiche mit Zellen, von denen der technisch bessere zur Auswertung herangezogen wurde. Etwa 200 Zellen wurden jeweils ausgemessen. Das Ausmessen selber erfolgte direkt am Mikroskop mit Hilfe eines geeichten Okularmikrometers. Es stand ein Lichtmikroskop (ZEISS) mit Ölimmersionsobjektiv (100 x, ZEISS) und 12,5 x - Okular (ZEISS) zur Verfügung. Die Eichung wurde mit einem Objektmikrometer vorgenommen, ein Teilstrich des Okularmikrometers entsprach danach 1 µm. Auch ellipsoide Zellkerne wurden ausgemessen, wobei das arithmetische Mittel der beiden Ellipsendurchmesser als Kreisdurchmesser genommen wurde. Hierdurch ergibt sich bei der Flächenberechnung ein vernachlässigbarer Fehler (2). Nicht ganzzahlige Ergebnisse wurden abgerundet.

5. Graphische Darstellung der Versuchsergebnisse

Es wurden Summenkurven und Einzelzellkurven gezeichnet. Die Summenkurven stellen die Größenverteilung aller ausgemessenen Zellkerne zum jeweiligen Zeitpunkt dar. Zur besseren Übersicht wurden die zu den einzelnen Zeitpunkten gehörenden Kurven nicht in ein Diagramm geschrieben, sondern in verschiedene, senkrecht übereinander angeordnete, wobei die Ausgangskurve oben liegt.

Bei den Einzelzellkurven sind die einzelnen Diagramme gleich angeordnet wie bei den Summenkurven. Es werden aber die einzelnen Zellarten (Lymphozyten, Virozyten, stimulierte Lymphozyten, Immunoblasten) dargestellt.

6. Statistische Auswertung

Zunächst wurde der Mittelwert $\bar{X}$ sowohl für die Summenkurven als auch für die Einzelzellkurven berechnet :

$$\bar{X} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{N}$$

wobei

$\bar{X}$ = Mittelwert
 x_n = Zellkerngrößen
 N = Anzahl der ausgemessenen Kerne.

Der Mittelwert wird benötigt zur Berechnung des mittleren Fehlers sowie der signifikanten Differenz.

Als Beispiel für die Berechnung des Mittelwertes seien die Werte des 1. Versuches von der 168. Std., Summenkurve, eingesetzt :

Für x_1 ergibt sich der Wert 7, da dieser 22 mal auftritt, ergibt sich für den ersten Summanden auf dem Bruchstrich $7 \times 22 = 154$, für den zweiten $8 \times 55 = 440$, für den dritten $9 \times 116 = 1044$ usf.

Also

$$\bar{X} = \frac{154 + 440 + 1044 + 280 + 121 + 36 + 26 + 14}{238}$$

238 ist die Gesamtzahl der ausgemessenen Zellkerne.

Für $\bar{X}$ ergibt sich in diesem Fall

$$\bar{X} = 8,89$$

Die Zellkerne sind also im Durchschnitt $8,89 \mu\text{m}$ groß.

Zur Abschätzung der Genauigkeit des Mittelwertes dient der sogenannte mittlere Fehler, welcher aus der Summe der Quadrate von Einzelabweichungen ermittelt wird. Er gibt den Bereich an, in dem der wahre Mittelwert mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit (68,27 % bei einem Freiheitsgrad) zu suchen ist. Der mittlere Fehler wird mit folgender Formel berechnet :

$$S_M = \sqrt{\frac{\sum (x_n - \bar{X})^2}{N \cdot (N - 1)}}$$

wobei

S_M = mittlerer Fehler

x_n = Zellkerngrößen

$\bar{X}$ = Mittelwert

N = Anzahl der ausgemessenen Kerne

Der errechnete Mittelwert $\bar{X}$ wird mit dem dazugehörigen mittleren Fehler S_M in der Form $\bar{X} \pm S_M$ angegeben.

Ein Beispiel für die Errechnung des mittleren Fehlers mit denselben Werten wie oben :

$$S_M = \sqrt{\frac{(7-8,89)^2 \cdot 22 + (8-8,89)^2 \cdot 55 + (9-8,89)^2 \cdot 116 + (10-8,89)^2 \cdot 28 + (11-8,89)^2 \cdot 11 + (12-8,89)^2 \cdot 3 + (13-8,89)^2 \cdot 2 + (14-8,89)^2 \cdot 1}{238 \cdot 237}}$$

$$= 0,1$$

Die im Anhang zu findenden Werte für die mittleren Fehler wurden aber, anders als in diesem Beispiel, mit Mittelwerten errechnet, die auf 4 Stellen nach dem Komma genau waren.

Der Unterschied zweier Kurven wurde rechnerisch mit der signifikanten Differenz SD berechnet nach folgender Formel :

$$SD = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_{M_1} - S_{M_2}}$$

wobei

$$\begin{aligned} SD &= \text{signifikante Differenz} \\ \bar{X}_1 &= \text{Mittelwert Kurve 1 (Kontrolle)} \\ \bar{X}_2 &= \text{Mittelwert Kurve 2 (Zusatz)} \\ S_{M_1} &= \text{mittlerer Fehler Kurve 1} \\ S_{M_2} &= \text{mittlerer Fehler Kurve 2} \end{aligned}$$

Ist die $SD > 2$, so wird ein signifikanter Unterschied angenommen. Berechnung von $\bar{X}$, S_M und SD aus (29).

Zusätzlich wurden die Versuchsergebnisse noch dem χ^2 -Test unterworfen, also die Immunoblastenbildung in den LPS-Kulturen mit der Immunoblastenbildung in den Kontrollkulturen verglichen. Der von HELMERT PEARSON schon lange angegebene χ^2 -Test ist auch bei einem kleineren Umfang der Versuchsreihen noch brauchbar (28). Die Berechnung der Maßzahl χ^2 wird folgendermaßen vorgenommen :

$$\begin{aligned} \chi^2 &= \int \frac{(B - E)^2}{E} \text{Kontr.} + \int \frac{(B - E)^2}{E} \text{Zusatz} \\ \int \frac{(B - E)^2}{E} &= \frac{(BI - EI)^2}{EI} + \frac{(BN - EN)^2}{EN} \quad (\text{Kontr. oder Zusatz}) \end{aligned}$$

wobei

$$\begin{aligned} BI &= \text{Beobachtungswert Immunoblasten} \\ BN &= \text{Beobachtungswert Nicht-Immunoblasten} \\ EI &= \text{Erwartungswert Immunoblasten} \\ EN &= \text{Erwartungswert Nichtimmunoblasten} \\ BIN &= \text{Gesamtzahl der beobachteten Zellen} \end{aligned}$$

Die Erwartungswerte errechnen sich folgendermaßen :

$$EI/\text{Kontr.} = \frac{BI/\text{Kontr.} + BI/\text{Zusatz}}{BIN/\text{Kontr.} + BIN/\text{Zusatz}} \cdot BIN/\text{Kontr.}$$

$$EI/\text{Zusatz} = \frac{BI/\text{Kontr.} + BI/\text{Zusatz}}{BIN/\text{Kontr.} + BIN/\text{Zusatz}} \cdot BIN/\text{Zusatz}$$

sowie $EN = BIN - EI$ jeweils getrennt für Kontrolle und Zusatz.

Ein Beispiel, wiederum mit den Werten von Versuch 1, 168. Std., soll das Verfahren verdeutlichen !

Wir errechnen zunächst getrennt für Kontrolle und Zusatz die Beobachtungswerte für Immunoblasten und Nichtimmunoblasten, indem wir die bei den einzelnen Zellkerngrößen gefundenen Zellzahlen entsprechend addieren.

So ergibt sich

	BI/Kontr. = 63	;	BI/Zusatz = 149
	BN/Kontr. = 123	;	BN/Zusatz = 89
und	BIN/Kont. = 186	;	BIN/Zusat.= 238

weiter EI/Kontr. = $\frac{63 + 149}{186 + 238}$ 186 = 93

EI/Zusatz = $\frac{63 + 149}{186 + 238}$ 238 = 119

sowie EN/Kontr. = 186 - 93 = 93

EN/Zusatz = 238 - 119 = 119

Mit den so gefundenen Werten läßt sich nun χ^2 berechnen.

$$\chi^2 = \frac{(63 - 93)^2}{93} + \frac{(123 - 93)^2}{93} + \frac{(149 - 119)^2}{119} + \frac{(89 - 119)^2}{119}$$

$$= 34,481$$

=====

Um nun eine Aussage über die Signifikanz im Unterschied der beiden Versuche machen zu können, muß für den gefundenen χ^2 Wert der dazugehörige P - Wert ermittelt werden. Dieser läßt sich bequem mit den von PÄTAU (zitiert in 28) konstruierten graphischen Tafeln finden. Der auf diese Art gefundene P - Wert sagt etwas über die Signifikanz aus (immer bei 1 Freiheitsgrad) :

P > 0,05	-	Die Differenz ist zufallsbedingt
0,05 > P > 0,01	-	Die Zugehörigkeit zu einer Grundgesamtheit ist zweifelhaft
0,01 > P > 0,0027	-	Die Differenz ist statistisch einigermaßen gesichert
0,0027 > P	-	Die Differenz ist statistisch gut gesichert

Für den χ^2 Wert von 34,481 ergibt sich ein P - Wert zwischen 0,00000001 und 0,00000001, somit eine statistisch ausgezeichnet abgesicherte Differenz.

+ +
+

IV VERSUCHSERGEBNISSE

Versuch 1 : Blutkulturen des Venenblutes der Patientin I.I.

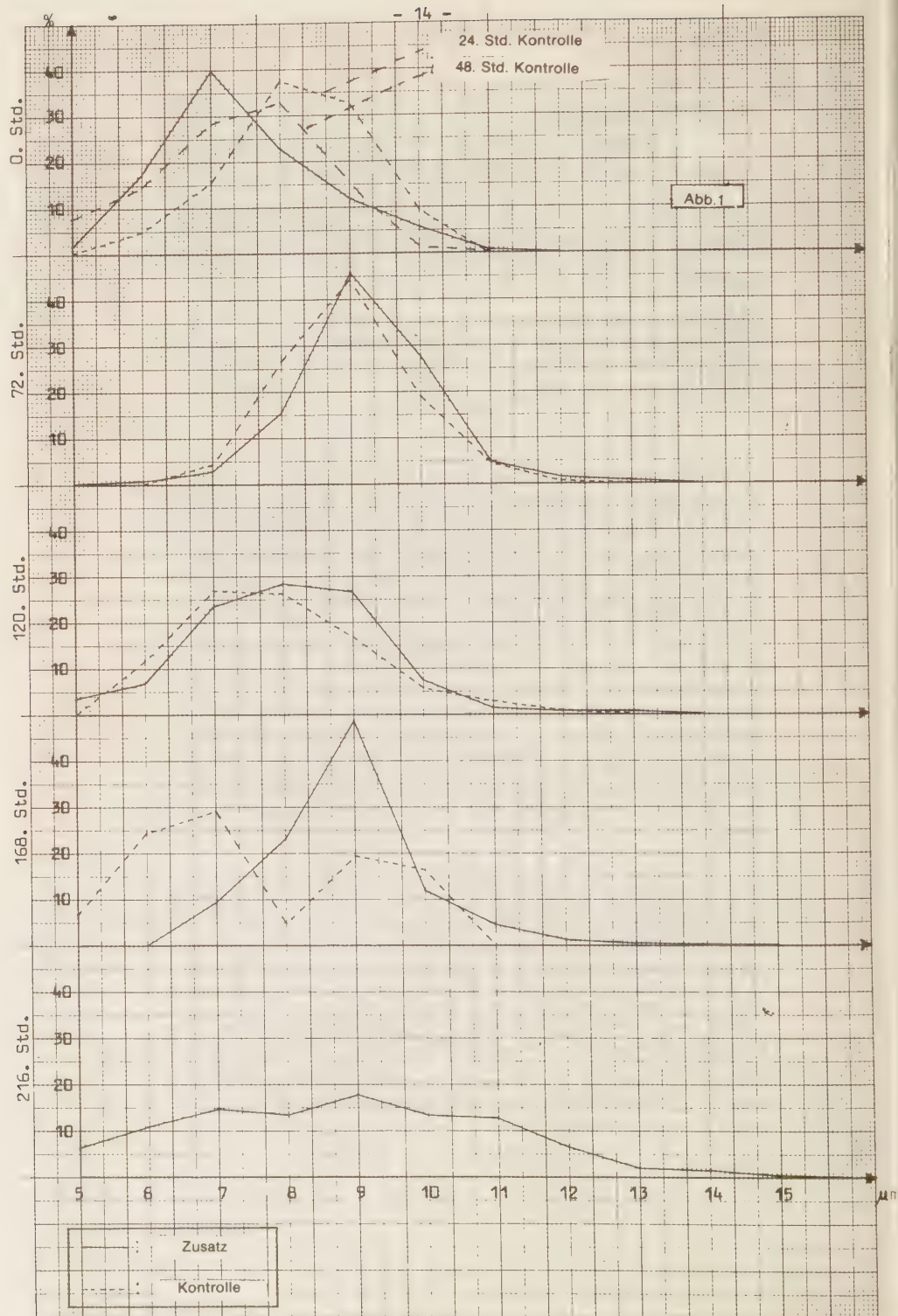
Diagnose : Lupus erythematodes visceralis

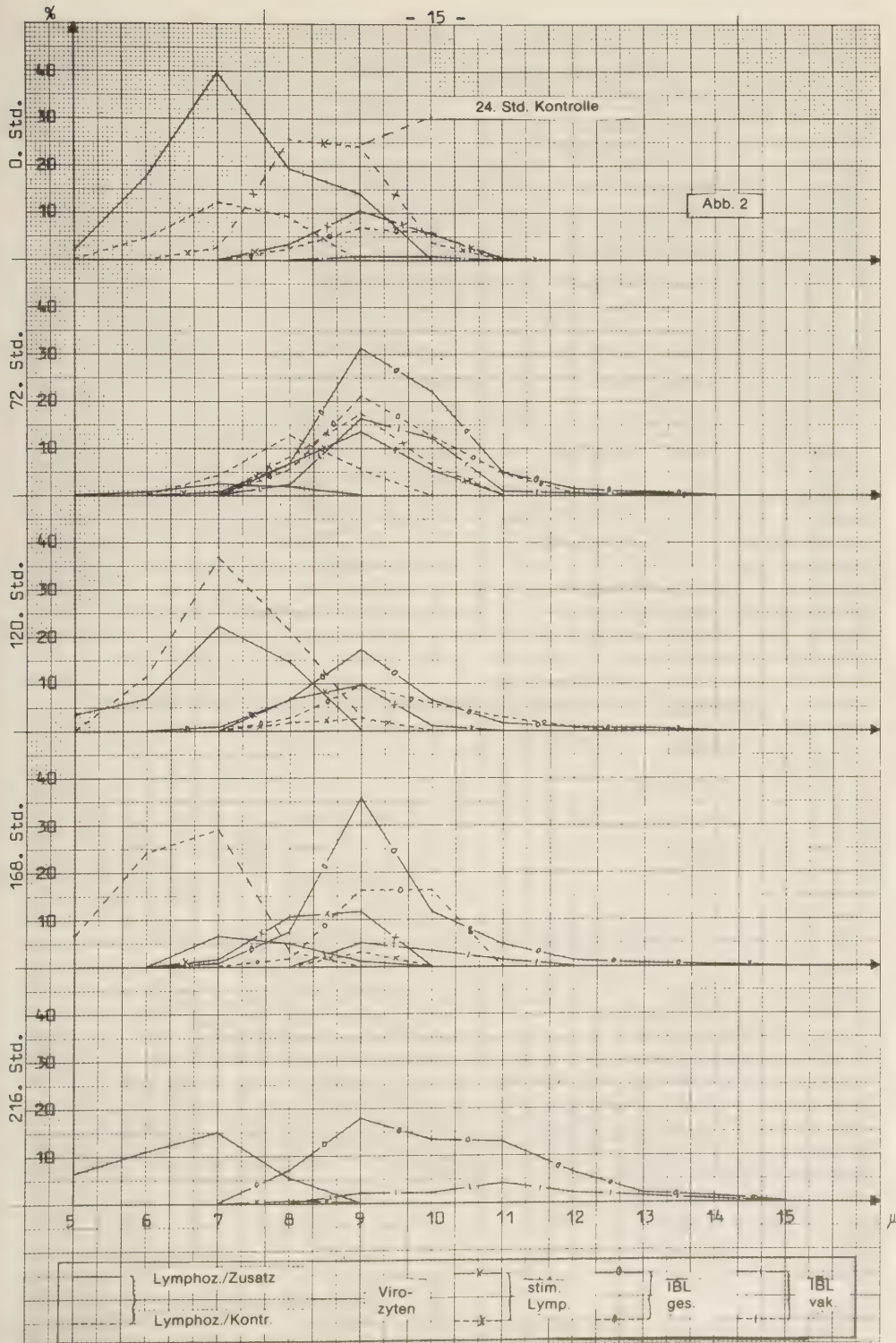
Blutbefunde :

Leukozyten	4400/ μ l	Eosinophile	2 %
Stabkernige	8 %	Erythrozyten	3,5 Mio./ μ l
Segmentkernige	54 %	Hb	10,2 g%
Monozyten	2 %	HbE	28,7 pg
Lymphozyten	34 %		

Im 0-Stundenpräparat finden wir bei den Summenkurven (Abb. 1) Zellen, deren Kerngröße von 5 - 11 μ m variiert, durchschnittliche Kerngröße 7,45 μ m. Bei den Kurven der Kontrollansätze, bei denen Ausstriche auch nach 24 und 48 Stunden vorgenommen wurden, zeigt sich bis zur 72. Stunde eine Vergrößerung der Kerndurchmesser bis auf durchschnittlich 8,95 μ m. Dieser Wert geht in der 120. Std. auf 7,79 μ m und in der 168. Std. auf 7,55 μ m zurück. Halten wir nun die Kurven, die den LPS-Ausstrichen entsprechen, dagegen, so scheinen sie sich in der 72. und der 120. Std. weitgehend zu entsprechen. In der Tat bewegt sich die SD mit 2,95 für die 72. bzw. 2,13 für die 120 Std. an der Grenze zur Nicht-Signifikanz. Bemerkenswert ist in der 120. Std. die größere Variationsbreite der Zellkerne im LPS-Ausstrich, die von 5 - 13 μ m reicht. In der 168. Std. ist der Unterschied in den Summenkurven erheblich. Die LPS-Kurve zeigt einen relativ hohen Anteil von großen Zellen, der in der 216. Std. noch weiter angewachsen ist. Die LPS-Kurve in der 216. Std. ist verhältnismäßig flach, deutet also auf eine Vermehrung von großen und kleinen Zellen hin.

Bei den Einzelzellkurven ergibt sich folgende Ausgangssituation : 80 % Lymphozyten, im Kern variierend von 5 - 9 μ m, und 20 % stim. Lymphozyten, Kerne 8 - 11 μ m groß. Im weiteren Verlauf muß man feststellen, daß auch die Kontrollkulturen Immunoblasten hervorgebracht haben. Es sind jedoch in den LPS-Ausstrichen mehr, was durch den χ^2 Test auch belegt wird. Die Größe der Immunoblasten ist bei Kontrolle und Zusatz etwa gleich (s. Abb. 3). Zu bemerken ist noch, daß die 216. Std. wieder einen relativ hohen Anteil kleiner Lymphozyten besitzt (Abb. 2). Die Mittelwerte der einzelnen Zellen mit ihren mittleren Fehlern sowie ihre prozentualen Anteile sind in einer Tabelle (Abb. 3) festgehalten.





t		L P S		KONTROLLE	
		mittl. Ø	%		
0	Lym.	7,02±0,06	80		
	st.L.	9,17±0,11	20		
	IBL	/	0		
72	Lym.	7,30±0,21	5	8,06±0,10	22,9
	st.L.	8,91±0,10	26,5	8,96±0,08	32,5
	IBL	9,49±0,08	68,7	9,40±0,09	44,5
120	Lym.	7,02±0,09	47,7	7,21±0,06	72,9
	st.L.	8,68±0,10	16,9	8,60±0,16	4,8
	IBL	9,21±0,14	35,0	9,52±0,15	22,2
168	Lym.	7,58±0,12	13,0	6,46±0,07	62,9
	st.L.	8,41±0,08	24,4	9,00±0,00	3,2
	IBL	9,34±0,09	62,4	9,43±0,07	33,8
216	Lym.	6,51±0,11	38,0		
	st.L.	8,00±0,00	0,5		
	IBL	10,10±0,13			

Abb. 3

Versuch 2 : Blutkulturen des Venenblutes des Patienten W.M.

Diagnose : Plasmocytom

Blutbefunde :

Leukozyten	4600/µl	Erythrozyten	3,26 Mio./µl
Segmentkernige	60 %	Hb	11,0 g%
Monozyten	10 %	HbE	32,6 pg
Lymphozyten	30 %	Thrombozyten	176 000 /µl

Bei diesem Versuch ähnelt das 0-Stundenpräparat dem vorhergehenden Versuch. Die Kerngrößen variieren von 5 - 10 µm, bei einer durchschnittlichen Größe von 7,34 µm. Bis zur 72. Std. verläuft die Entwicklung bei Kontrolle und LPS-Kultur nahezu gleich (Abb. 4). Die Zellkerne vergrößern sich auf durchschnittlich 9,12 µm bei der Kontrolle bzw. 9,03 bei der LPS-Kultur. Die Kurven sind nahezu identisch (SD = 1,05). In der 120. Std. erhöht sich aber bei den Kontrollkulturen wieder die Zahl der kleineren Zellen, die durchschnittliche Kerngröße sinkt auf 8,11 µm, während sich bei den LPS-Kulturen noch mehr größere Zellen herausbilden, die mittlere Kerngröße konstant bleibt mit 9,01 µm. Hier unterscheiden sich die beiden Kurven signifikant.

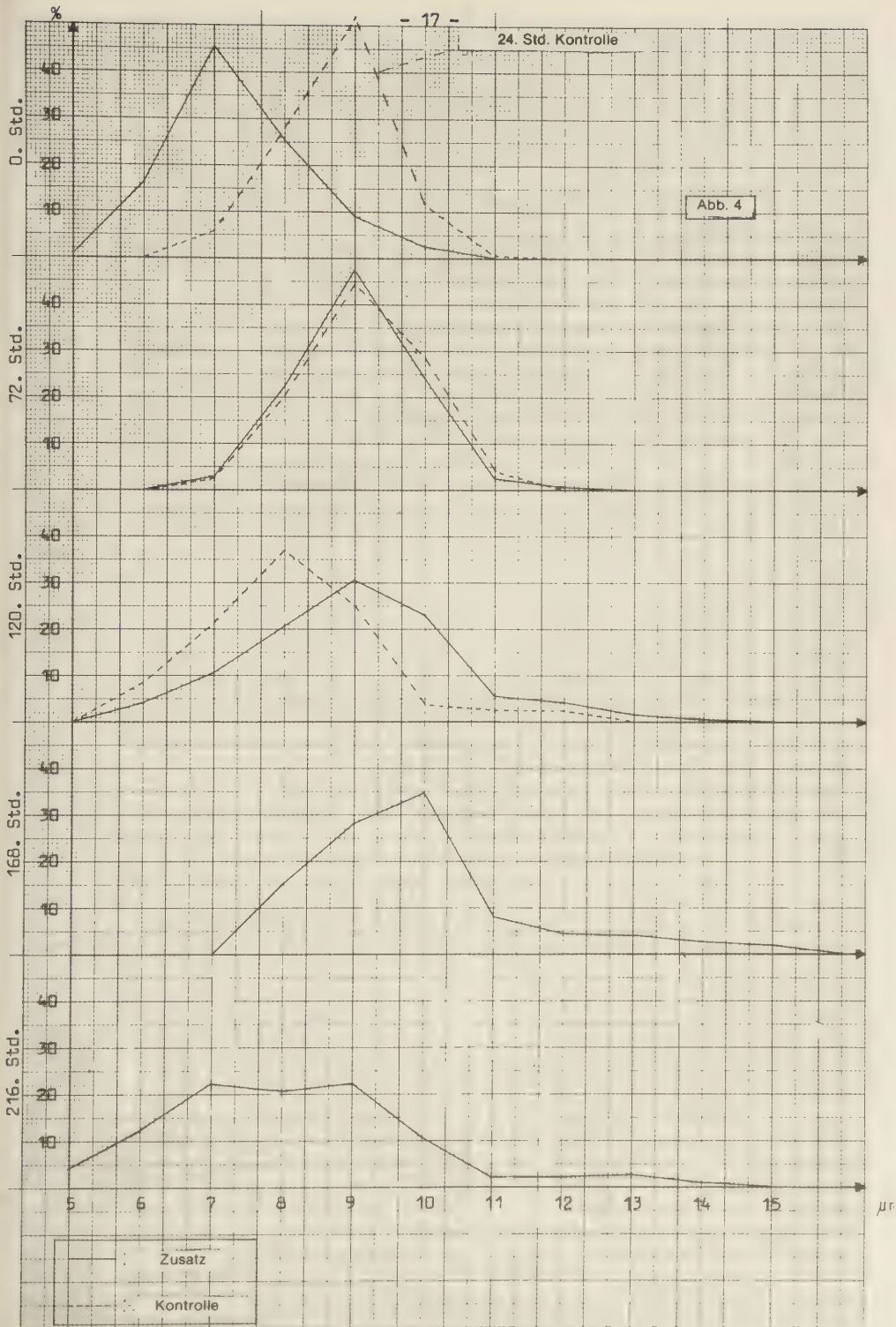
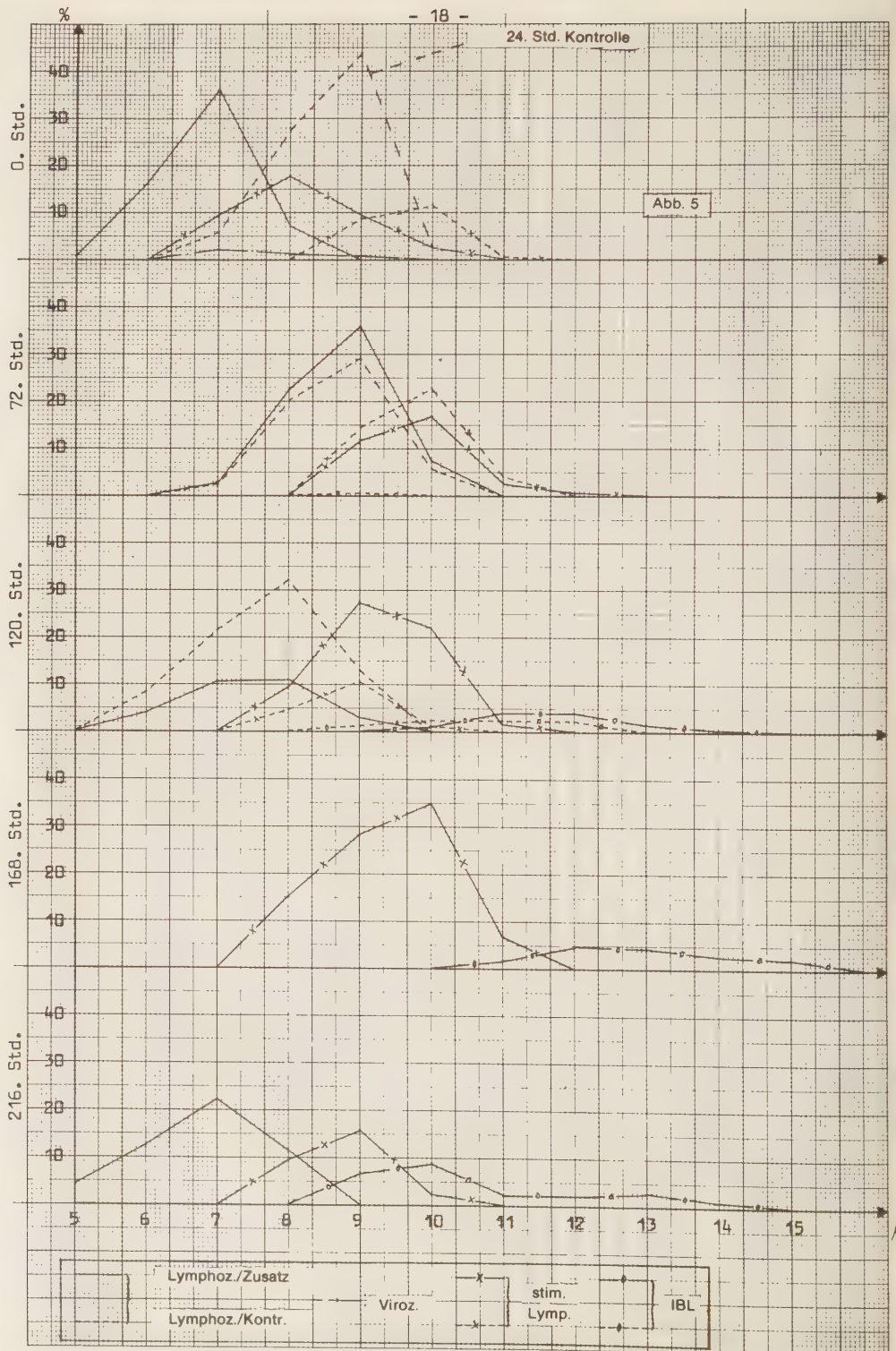


Abb. 5



Bei der LPS-Kultur steigt die mittlere Kerngröße bis zur 168. Std. noch weiter auf $9,93 \mu\text{m}$, bedingt durch das Auftreten noch größerer Zellen. Die 216. Std. zeigt wieder eine stark abgeflachte Kurve, bedingt durch den größeren Anteil kleiner Zellen. Die mittlere Kerngröße ist wieder gesunken auf $8,18 \mu\text{m}$. Die Variationsbreite der Kerne reicht von $5 - 14 \mu\text{m}$!

Bei den Einzelzellkurven fällt zunächst einmal auf, daß, obwohl sich die Zellkerne stark vergrößert haben, in der 72. Std. noch keine Immunoblasten auftreten (lediglich im Kontrollansatz ein einziger von $9 \mu\text{m}$ Größe). (Abb. 5) In der 120. Std. treten in beiden Ansätzen Immunoblasten auf und zwar im LPS-Ansatz mehr als in der Kontrolle, jedoch ergibt der χ^2 -Test keine Signifikanz. Bei Einbeziehung der stimulierten Lymphozyten würde man aber sicher eine Signifikanz zugunsten des LPS-Ansatzes erhalten. Die Immunoblasten im LPS-Ansatz sind auch größer und ihr Anteil erhöht sich bis auf 23,3 % in der 216. Std. Auffallend ist zu diesem Zeitpunkt auch der hohe Anteil kleiner Lymphozyten.

Die mittleren Kerngrößen der einzelnen Zellen zu den verschiedenen Zeitpunkten mit den dazugehörigen mittleren Fehlern und prozentualen Anteilen in der Abb. 6.

t		L P S			
		mittl. Ø	%		
0	Lym.	$6,82 \pm 0,06$	60,9	KONTROLLE	
	st.L.	$8,14 \pm 0,09$	38,9		
	IBL	/	0	mittl. Ø	%
72	Lym.	$8,69 \pm 0,06$	68,2	$8,66 \pm 0,07$	57,6
	st.L.	$9,73 \pm 0,08$	31,7	$9,75 \pm 0,07$	41,8
	IBL	/	0	$9,00 \pm 0,00$	0,5
120	Lym.	$7,46 \pm 0,11$	28,5	$7,67 \pm 0,00$	74,9
	st.L.	$9,26 \pm 0,07$	60,5	$8,79 \pm 0,11$	16,7
	IBL	$11,68 \pm 0,21$	11,0	$10,71 \pm 0,29$	8,4
168	Lym.	/	0		
	st.L.	$9,39 \pm 0,07$	84,9		
	IBL	$12,93 \pm 0,23$	15,1		
216	Lym.	$6,81 \pm 0,09$	49,9		
	st.L.	$8,73 \pm 0,08$	26,9		
	IBL	$10,49 \pm 0,22$	23,3		

Abb. 6

Versuch 3 : Blutkulturen des Venenblutes der Patientin E. W.

Diagnose : Lymphoreticuläres Sarkom im Bereich des linken Oberkiefers und der linken Glandula parotis.

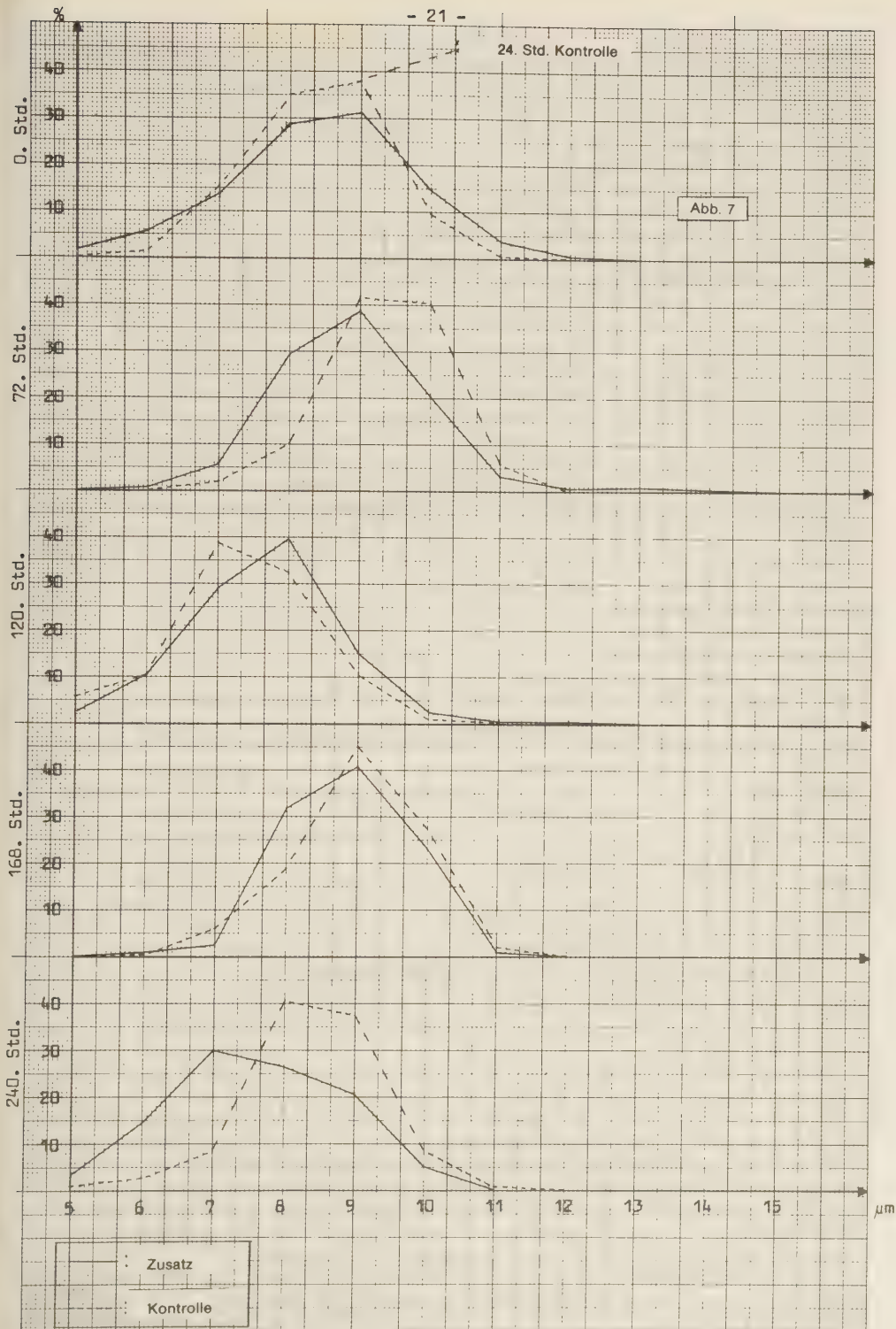
Blutbefunde :

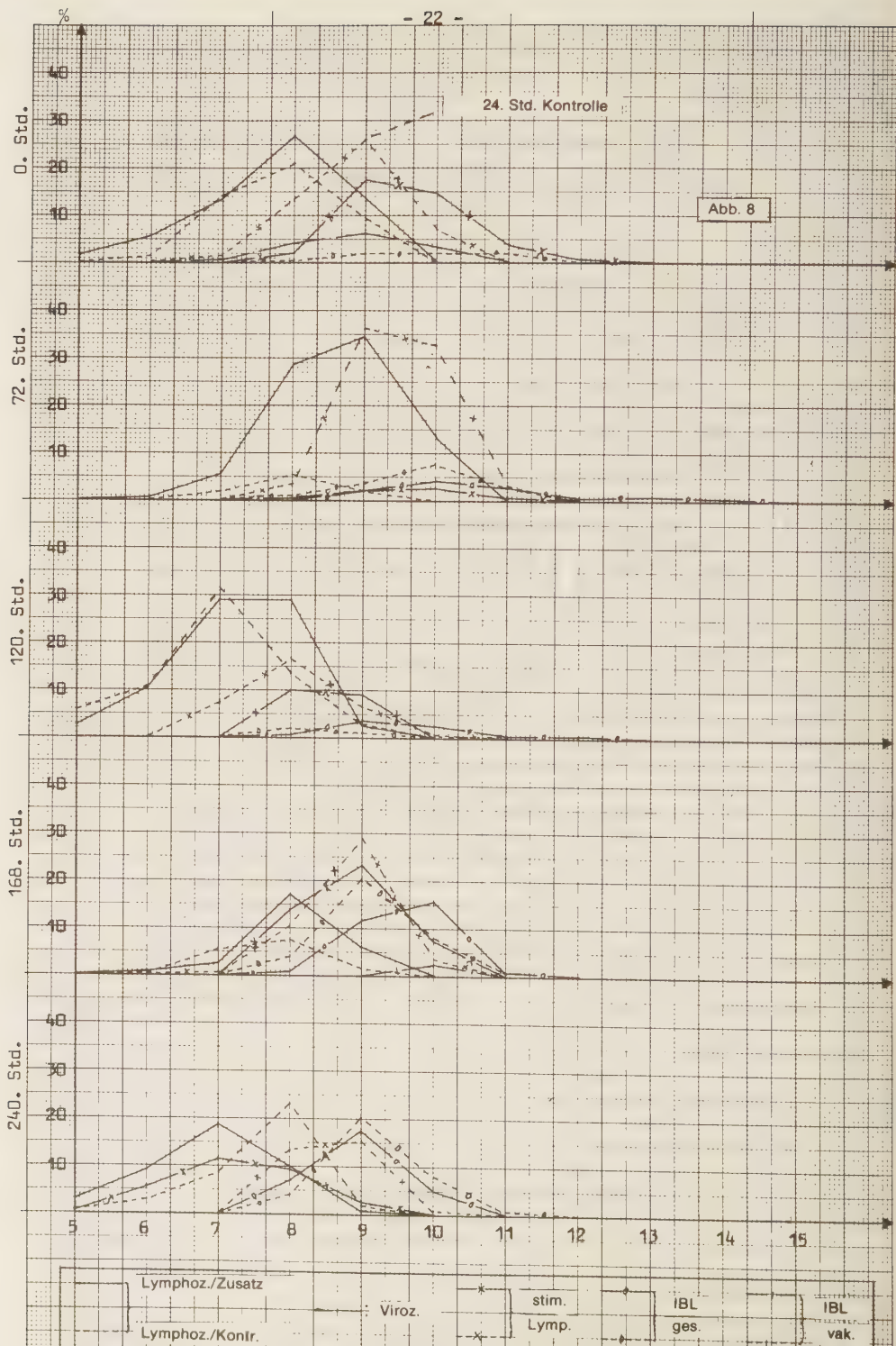
Leukozyten	4100 / μ l	Lymphozyten	21 %
Stabkernige	5 %	Erythrozyten	4,6 Mio./ μ l
Segmentkernige	72 %	Hb	13,5 g%
Monozyten	2 %	HbE	29,4 pg

Bei diesem Versuch beträgt die mittlere Kerngröße im O-Stundenpräparat $8,44 \mu\text{m}$ und auch hier finden wir bei den Summenkurven (Abb. 7) zunächst eine Zunahme der Kerngröße bis zur 72. Std. Diese Zunahme fällt in der Kontrollkultur größer aus als in der LPS-Kultur, der Unterschied ist signifikant. Bis zur 120. Std. nimmt die Kerngröße wieder ab, auch diese Abnahme fällt bei der Kontrolle stärker aus, so daß hier die Zellkerne der LPS-Kultur in ihrer Gesamtheit signifikant größer sind. Die mittlere Kerngröße mit $7,66 \mu\text{m}$ ist aber kleiner als im Ausgangspräparat. In der 168. Std. wieder Zunahme der Kerngrößen, aber kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Kulturen. In der 240. Std. sind die Zellkerne der Kontrolle signifikant größer als bei der LPS-Kultur. Dies ist bedingt durch eine starke Zunahme der kleinen Zellen in der LPS-Kultur. Auffallend ist noch eine geringe Variationsbreite der Zellkerne in der 168. Std. und auch in der 240. Std.

Die Einzelzellkurven zeigen uns, daß die Kontrollkulturen durchweg mehr Immunoblasten hervorgebracht haben als die LPS-Kulturen (Abb. 8). In der 168. Std. besteht sogar Signifikanz nach dem χ^2 -Test zugunsten der Kontrolle. Maximal hatten die Immunoblasten einen Anteil von 41,5 % (168. Std. Kontrolle). Die Einzelzellkurven zeigen uns aber auch, daß nur wenige große Immunoblasten mit Kerngrößen von $11 - 12 \mu\text{m}$ und darüber hervorgebracht wurden und daß diese großen Immunoblasten sich nur in den LPS-Kulturen entwickelten.

Da nur wenige große Immunoblasten entstanden, muß die Entwicklung der Immunoblasten bei diesem Versuch nicht so sehr mit einer gleichzeitigen Vergrößerung des Zellkerns verbunden gewesen sein. (Siehe auch Abb. 9)





		L P S			
t		mittl. Ø	%		
0	Lym.	7,74 $\pm$ 0,09	61,6	KONTROLLE	
	st.L.	9,55 $\pm$ 0,09	38,4		
	IBL	/	0	mittl. Ø	%
72	Lym.	8,65 $\pm$ 0,07	83,3	8,00 $\pm$ 0,15	9,5
	st.L.	9,55 $\pm$ 0,25	5,7	9,47 $\pm$ 0,05	75,4
	IBL	10,62 $\pm$ 0,30	10,9	9,83 $\pm$ 0,15	15,0
120	Lym.	7,25 $\pm$ 0,07	73,5	6,96 $\pm$ 0,08	64,4
	st.L.	8,47 $\pm$ 0,08	19,0	8,00 $\pm$ 0,09	31,0
	IBL	9,60 $\pm$ 0,25	7,5	9,22 $\pm$ 0,49	4,5
168	Lym.	8,07 $\pm$ 0,09	26,3	7,67 $\pm$ 0,13	15,0
	st.L.	8,85 $\pm$ 0,07	44,4	8,82 $\pm$ 0,06	43,5
	IBL	9,57 $\pm$ 0,08	29,1	9,65 $\pm$ 0,07	41,5
240	Lym.	6,90 $\pm$ 0,10	41,5	7,59 $\pm$ 0,09	37,2
	st.L.	7,27 $\pm$ 0,12	29,0	8,58 $\pm$ 0,07	29,2
	IBL	8,93 $\pm$ 0,08	29,5	9,17 $\pm$ 0,08	33,4

Abb. 9

Versuch 4 : Blutkulturen des Venenblutes der Patientin M.B.

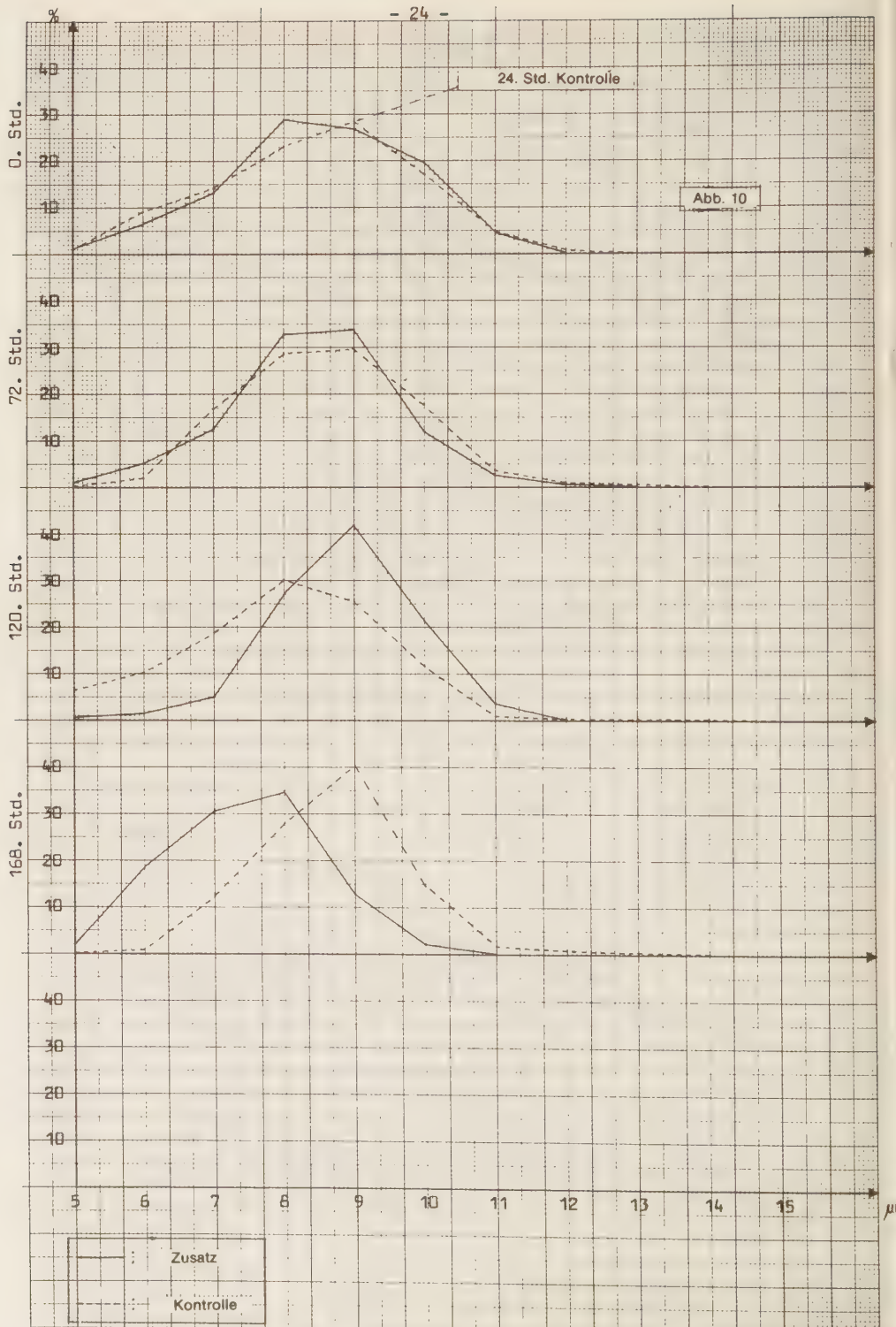
Diagnose : Perniziöse Anämie, behandelt

Blutbefunde :

Leukozyten	7300/ μ l	Retikulozyten	27	%
Segmentkernige	64 %	Hb	11,3	g%
Monozyten	1 %	HbE	28,2	pg
Lymphozyten	32 %	Thrombozyten	278 000	/ μ l
Erythrozyten	4,0 Mio./ μ l			

Dieser Versuch beginnt mit einer mittleren Kerngröße von 8,50 μ m im 0-Stundenpräparat, und die Kerngrößen variieren von 5 - 11 μ m. Dazu kommen in diesem Ausstrich erstaunlicherweise 5 % Immunoblasten ! Die Summenkurve der 0. Std. erscheint relativ flach im Gegensatz zu den vorhergegangenen Versuchen.

Die beiden Kurven der 72. Std. zeigen keine signifikante Differenz zur 0. Std. . Die mittleren Kerngrößen betragen 8,45 μ m (Kontrolle) bzw. 8,42 μ m (LPS). Sie sind somit auch untereinander gleich. Erst in der 120. Std. ergibt sich ein Unterschied zwischen der Kontrollkurve und der LPS-Kurve. Die mittlere Kerngröße ist in der Kontrolle auf 7,91 μ m abgefallen, während sie in der LPS-Kultur auf 8,85 μ m ange-

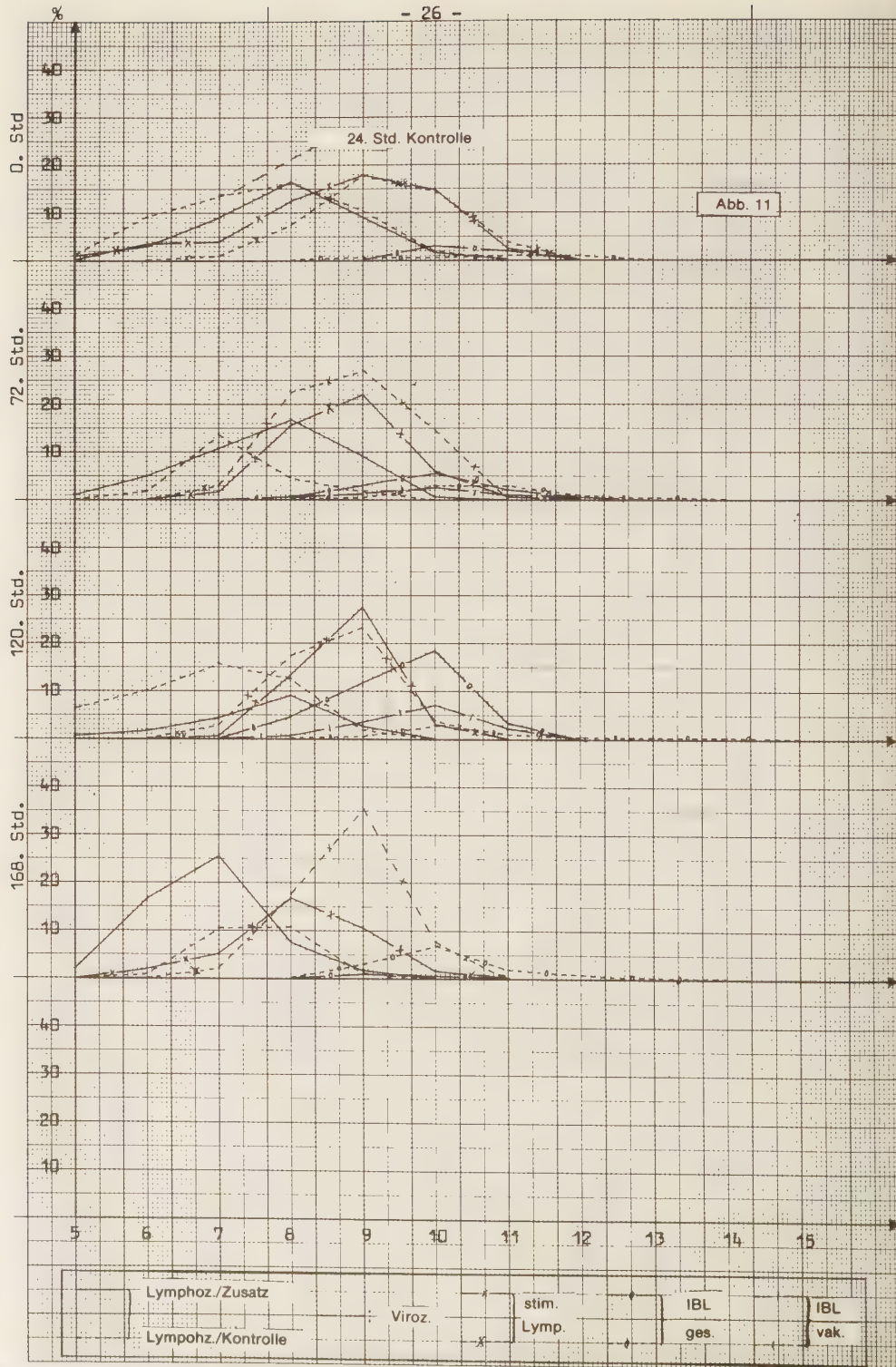


stiegen ist (jeweils signifikant). Die 168. Std. zeigt das umgekehrte Bild : die Kontrollausstriche wiesen größere Zellkerne auf - $8,68 \mu\text{m}$ gegenüber $7,84 \mu\text{m}$. (Abb. 10)

Genaueren Aufschluß über das Verhalten der Kulturen geben uns die Einzelzellkurven (Abb. 11). Es zeigt sich, daß in den Kontrollkulturen der Anteil der Immunoblasten bis zur 168. Std. stetig gestiegen ist und daß sie auch große Immunoblasten hervorgebracht haben. Bei den LPS-Kulturen war der Anstieg des Immunoblastenanteils wesentlich stärker, aber nur bis zur 120. Std. Danach starker Abfall der Immunoblasten und Ansteigen der Lymphozyten. In der 120. Std. findet man nach dem χ^2 -Test ein statistisch gesichertes Überwiegen der Immunoblasten in der LPS-Kultur. Die Abb. 12 hält mittlere Kerngrößen, mittlere Fehler und prozentuale Anteile der einzelnen Zellarten zu den verschiedenen Zeitpunkten fest.

		L P S			
t		mittl. $\bar{X}$	%		
0	Lym.	$7,85 \pm 0,12$	39,9	KONTROLLE	
	st.L.	$8,80 \pm 0,12$	55,2		
	IBL	$10,40 \pm 0,16$	5,0	mittl. $\bar{X}$	%
72	Lym.	$7,68 \pm 0,11$	43,3	$7,33 \pm 0,11$	23,8
	st.L.	$8,75 \pm 0,08$	45,3	$8,81 \pm 0,07$	68,4
	IBL	$9,91 \pm 0,19$	11,5	$10,75 \pm 0,25$	8,0
120	Lym.	$7,64 \pm 0,16$	18,0	$6,87 \pm 0,11$	46,8
	st.L.	$8,74 \pm 0,06$	44,0	$8,59 \pm 0,07$	47,4
	IBL	$9,55 \pm 0,09$	38,0	$10,83 \pm 0,42$	5,9
168	Lym.	$7,01 \pm 0,08$	62,8	$7,57 \pm 0,10$	24,1
	st.L.	$8,13 \pm 0,11$	35,7	$8,79 \pm 0,06$	62,6
	IBL	$9,33 \pm 0,33$	1,5	$10,19 \pm 0,19$	13,4

Abb. 12



Versuch 5 : Blutkulturen des Venenblutes der Patientin P.S.

Diagnose : Panmyelophthase

Blutbefunde :

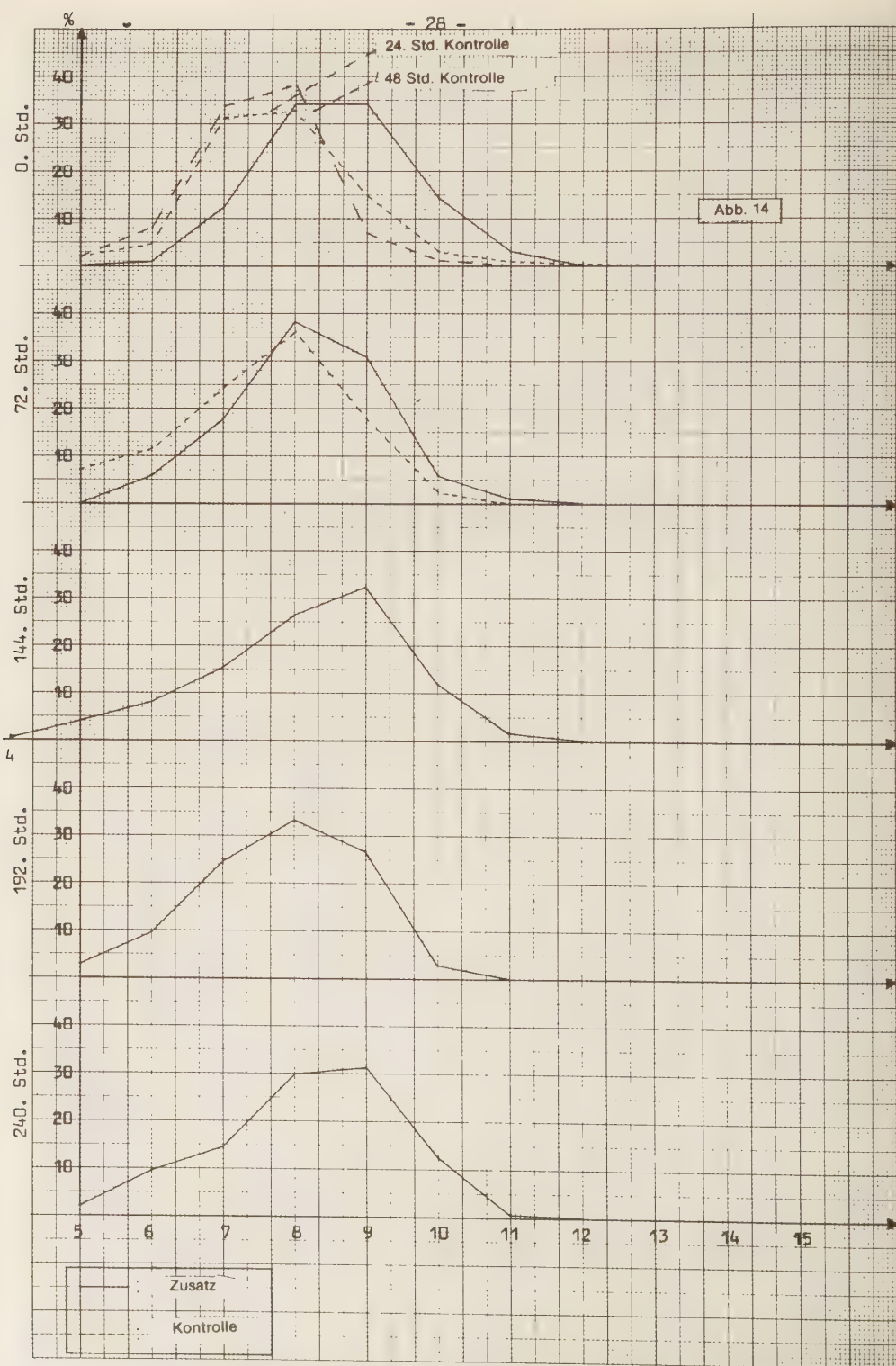
Leukozyten	3100/ μ l	Erythrozyten	1,7 Mio./ μ l
Stabkernige	3 %	Hb	5,5 g%
Segmentkernige	12 %	HbE	32,4 pg
Monozyten	2 %	Thrombozyten	14000/ μ l
Lymphozyten	83 %		

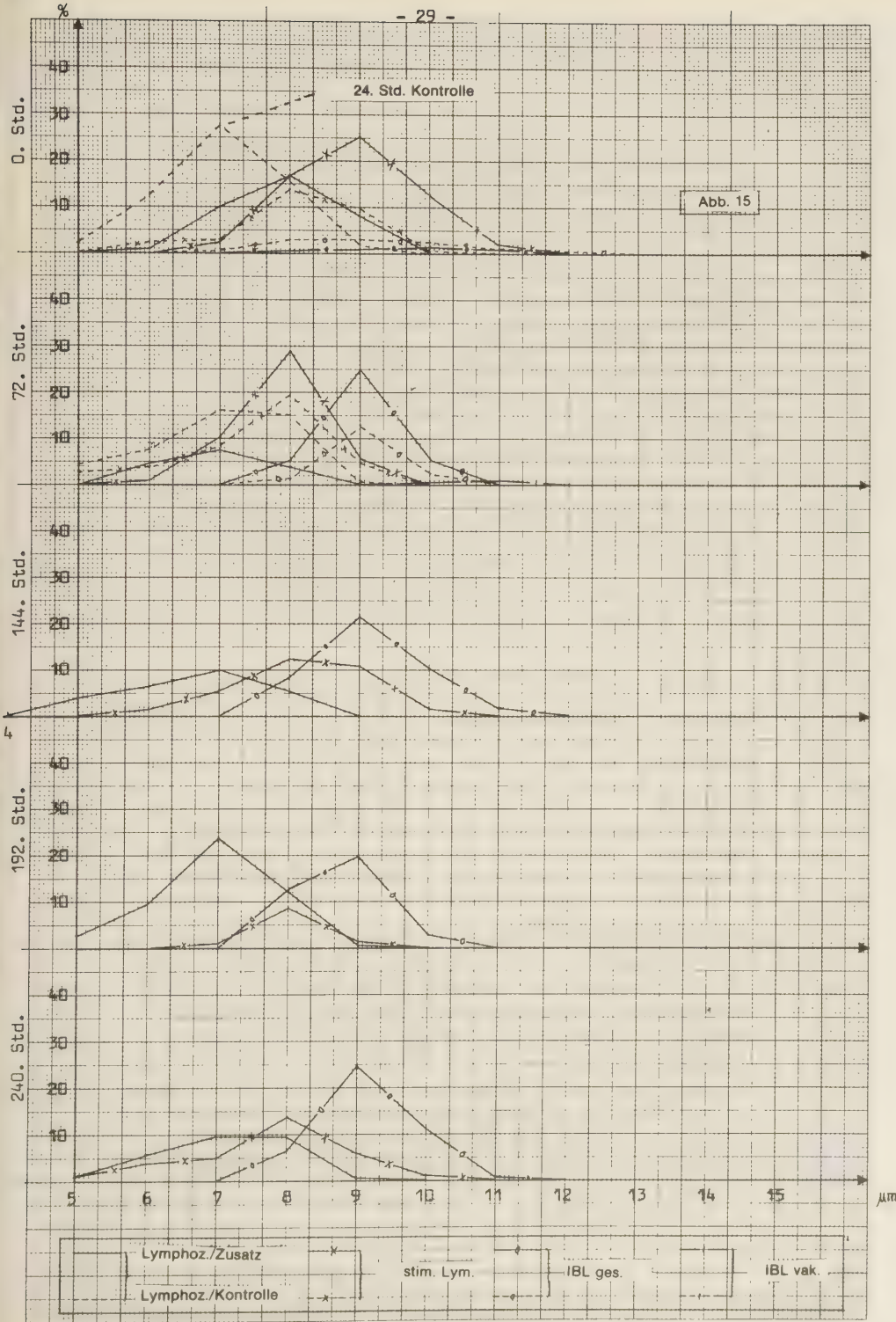
Die Ausgangssituation zeigt hier einen mittleren Kerndurchmesser von 8,58 μ m bei einer Variationsbreite der Kerne von 6 - 11 μ m. Auch hier wieder im 0-Stundenpräparat 4 % Immunoblasten ! Die Kontrollkulturen stellen sich in den Summenkurven folgendermaßen dar : Es wurden hier zusätzlich die 24. und 48. Std. festgehalten und man ersieht schon aus der Graphik (Abb. 14), daß bis zur 48. Std. die Zellkerne sich verkleinert haben. Und zwar geht die mittlere Kerngröße über 7,59 μ m in der 24. Std. signifikant auf 7,33 μ m in der 48 Std. Danach nicht-signifikanter Anstieg auf 7,53 μ m in der 72. Std.

		L P S			
t		mittl. Ø	%		
0	Lym.	7,89 $\pm$ 0,08	36,0	KONTROLLE	
	st.L.	8,92 $\pm$ 0,08	60,0		
	IBL	9,75 $\pm$ 0,13	4,0	mittl. Ø	%
72	Lym.	6,94 $\pm$ 0,13	16,2	6,99 $\pm$ 0,10	43,9
	st.L.	7,86 $\pm$ 0,07	46,3	7,49 $\pm$ 0,12	39,5
	IBL	9,07 $\pm$ 0,07	37,4	9,06 $\pm$ 0,08	16,6
144	Lym.	6,60 $\pm$ 0,14	26,5		
	st.L.	8,17 $\pm$ 0,10	31,8		
	IBL	9,12 $\pm$ 0,08	41,8		
192	Lym.	6,95 $\pm$ 0,08	48,9		
	st.L.	8,33 $\pm$ 0,10	16,0		
	IBL	8,73 $\pm$ 0,07	35,3		
240	Lym.	7,12 $\pm$ 0,12	26,0		
	st.L.	7,74 $\pm$ 0,14	30,9		
	IBL	9,14 $\pm$ 0,08	43,3		

Abb. 13

Bei der LPS-Kultur geht die mittlere Kerngröße bis zur 72. Std. auch zurück, allerdings nur auf 8,16 μ m, eine trotzdem signifikante Änderung. Die 144. Std., also die doppelte Zeit=





spanne, weist keine Veränderung auf (mittlerer Kerndurchmesser 8,15 μm). Erst in der 192. Std. hat sich der mittlere Kerndurchmesser signifikant verändert, er hat sich verkleinert auf 7,79 μm . Danach steigt er noch einmal an auf 8,18 μm , bleibt aber somit unter dem Ausgangswert von 8,58 μm .

Die Einzelzellkurven geben Aufschluß darüber (Abb. 15), daß sich Immunoblasten entwickelt haben, obwohl doch bei den Summenkurven keine Vergrößerung der mittleren Kerngröße gegenüber dem Ausgangswert auftritt. Immunoblasten treten aber auf bis zu einem Anteil von 43,3 % (240. Std.). Sie sind allerdings nicht größer als 11 μm (mit Ausnahme eines einzigen von 12 μm in der 24. Std. - Kontrolle), und die Gipfel ihrer Kurven liegen bei 9 μm , während sie sonst meist darüber liegen. Auch hier ist also zu beobachten, was bei Versuch 3 schon aufgetreten ist: Die Bildung von Immunoblasten ist nicht so sehr mit einer starken Vergrößerung des Zellkerns verknüpft, sondern besteht vielmehr, neben einer geringfügigen Kernvergrößerung, in einer strukturellen Veränderung der Zellkerne. Bemerkenswert bei diesem Versuch ist noch, daß die stimulierten Lymphozyten eine große Variationsbreite aufweisen, was gleichbedeutend ist mit dem Auftreten von relativ kleinen stimulierten Lymphozyten (144. Std. und besonders 240. Std.). Abb. 13 enthält die zu den Einzelzellkurven gehörenden Mittelwerte, mittleren Fehler und prozentualen Anteile.

Versuch 6 : Blutkulturen des Venenblutes der Patientin G.H.

Diagnose : Lymphosarkomatose

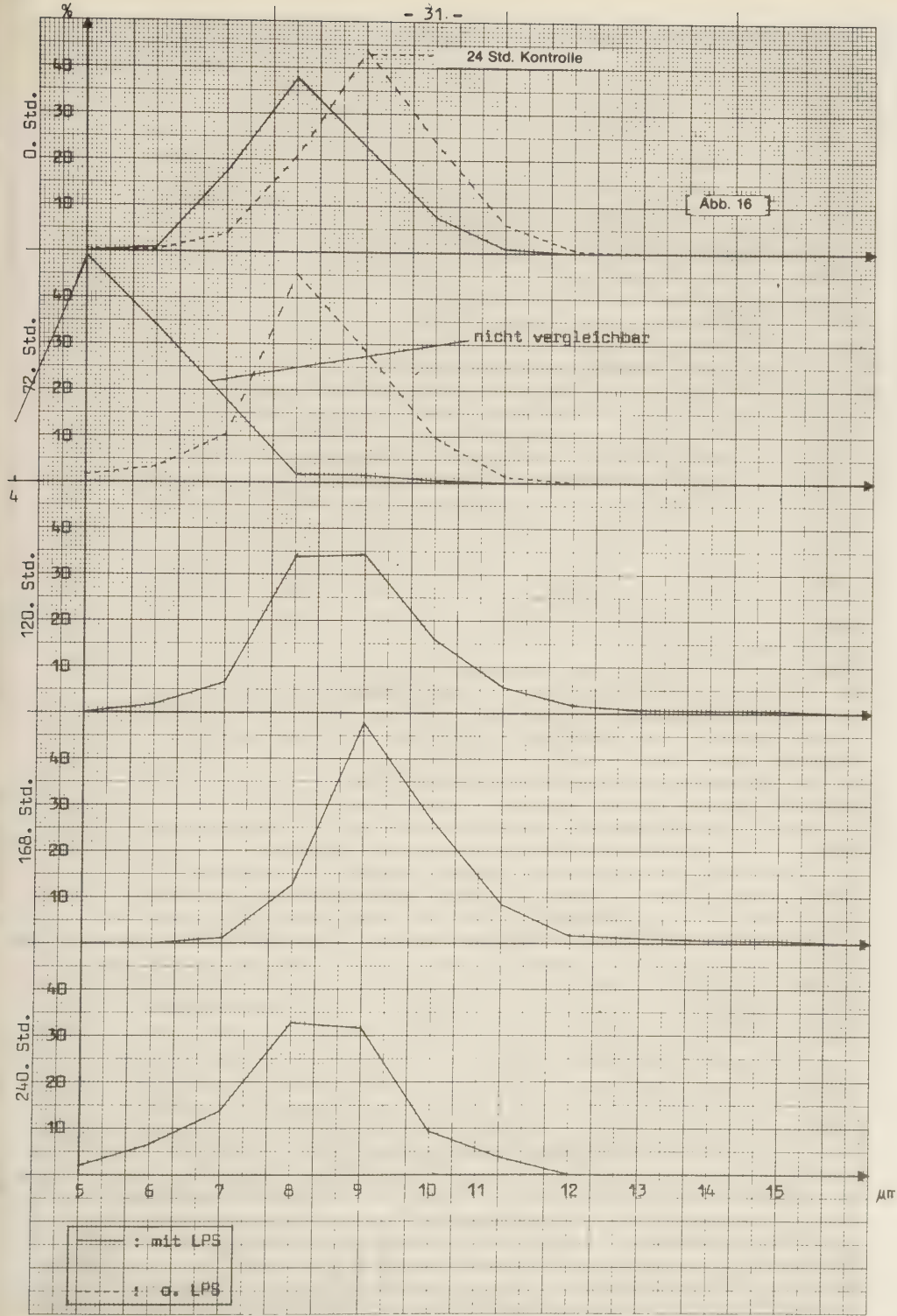
Blutbefunde :

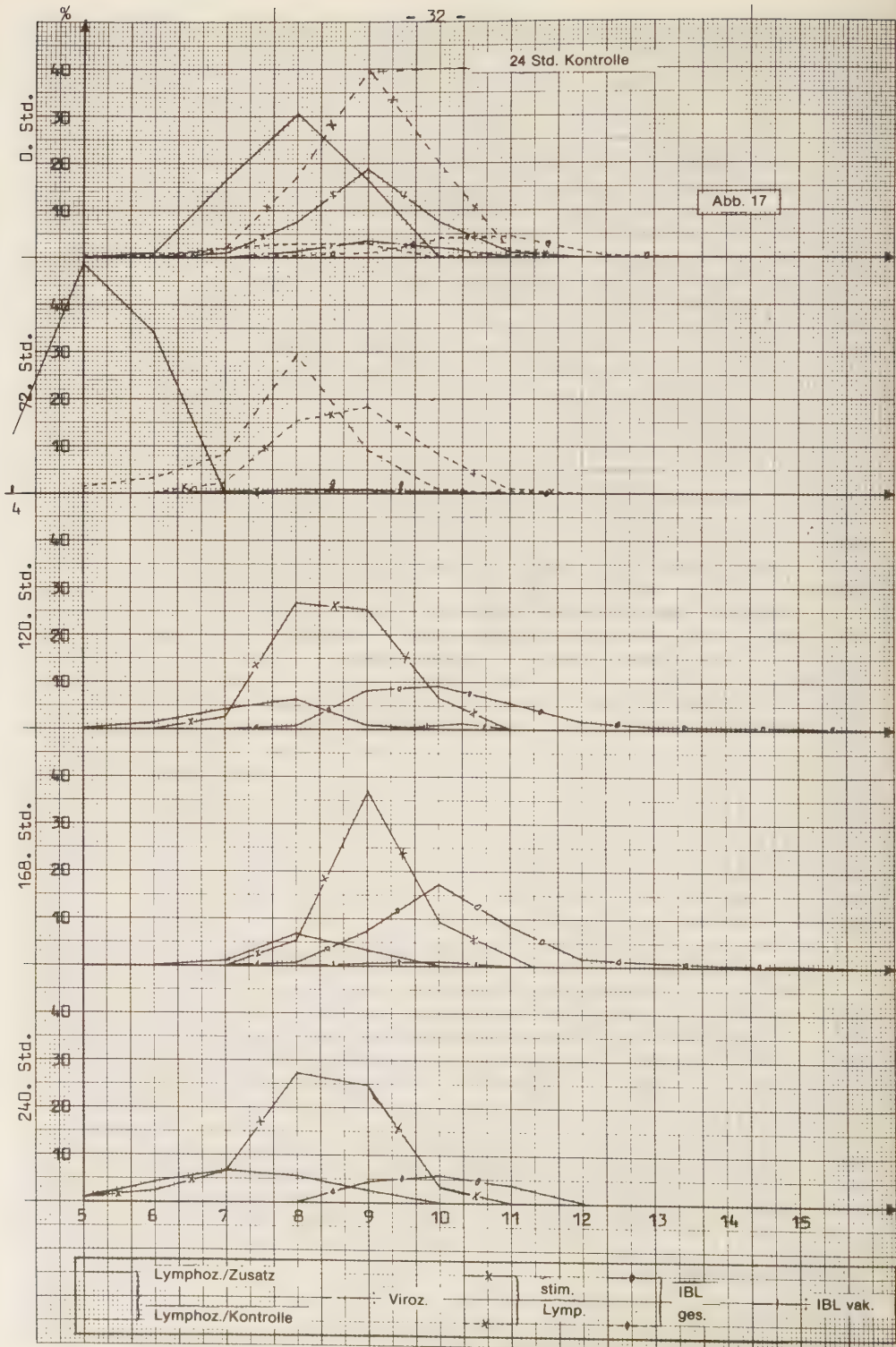
Leukozyten	5300 / μl	AMZ *	1 %
Stabkernige	3 %	Erythrozyten	4,3 Mio/ μl
Segmentkernige	72 %	Hb	11,5 g%
Monozyten	3 %	HbE	26,6 pg
Lymphozyten	20 %	Thrombozyten	240 000 / μl
Eosinophile	1 %		

Das Ausgangspräparat (Abb. 16) weist eine mittlere Kerngröße von 8,34 μm auf bei einer Variationsbreite der einzelnen Kerne von 6 - 11 μm . Von der Kontrollkultur sind die 24. und die 72. Std. in Ausstrichen festgehalten. Die Summenkurve der 24. Std. hebt sich deutlich von der 0. Std. ab, und rechnerisch steigt die mittlere Kerngröße signifikant auf 9,05 μm , um bis zur 72. Std. wieder auf 8,31 μm abzusinken, praktisch den Ausgangswert. (SD = 0,33)

Von den LPS-Kulturen ließ sich der Ausstrich der 72. Std. wegen eines technischen Defektes nicht auswerten, wir finden aber in der 120. und in der 168. Std. eine Vergrößerung der Kerne mit Mittelwerten von 8,87 μm bzw. 9,42 μm . In der 240. Std. beträgt die mittlere Kerngröße wieder 8,29 μm , keine ausreichende SD zur Ausgangskurve (SD = 0,46).

* = atypische mononukleäre Zellen





		L P S			
t		mittl. Ø	%		
0	Lym.	7,97±0,07	64,1	KONTROLLE	
	st.L.	9,00±0,14	35,9		
	IBL	/	0	mittl. Ø	%
72	Lym.			7,85±0,09	52,6
	st.L.			8,79±0,09	46,0
	IBL			9,67±0,67	1,5
120	Lym.	7,54±0,15	60,7		
	st.L.	8,60±0,06	13,4		
	IBL	10,14±0,17	26,6		
168	Lym.	8,22±0,13	11,3		
	st.L.	9,08±0,05	51,7		
	IBL	10,28±0,13	37,0		
240	Lym.	7,19±0,17	20,0		
	st.L.	8,26±0,08	65,8		
	IBL	9,97±0,14	14,2		

Abb. 18

Aus den Einzelzellkurven (Abb. 17) ersehen wir nun, daß die LPS-Kulturen viele und große Immunblasten hervorgebracht haben, sie erreichen einen Anteil von 37,0 %. Auch die Kontrollkultur hat große Immunblasten gebildet, der Immunblastenanteil erreicht aber nur maximal 10,5 % in der 24. Std. und ist in der 72. Std. auf 1,5 % gesunken.

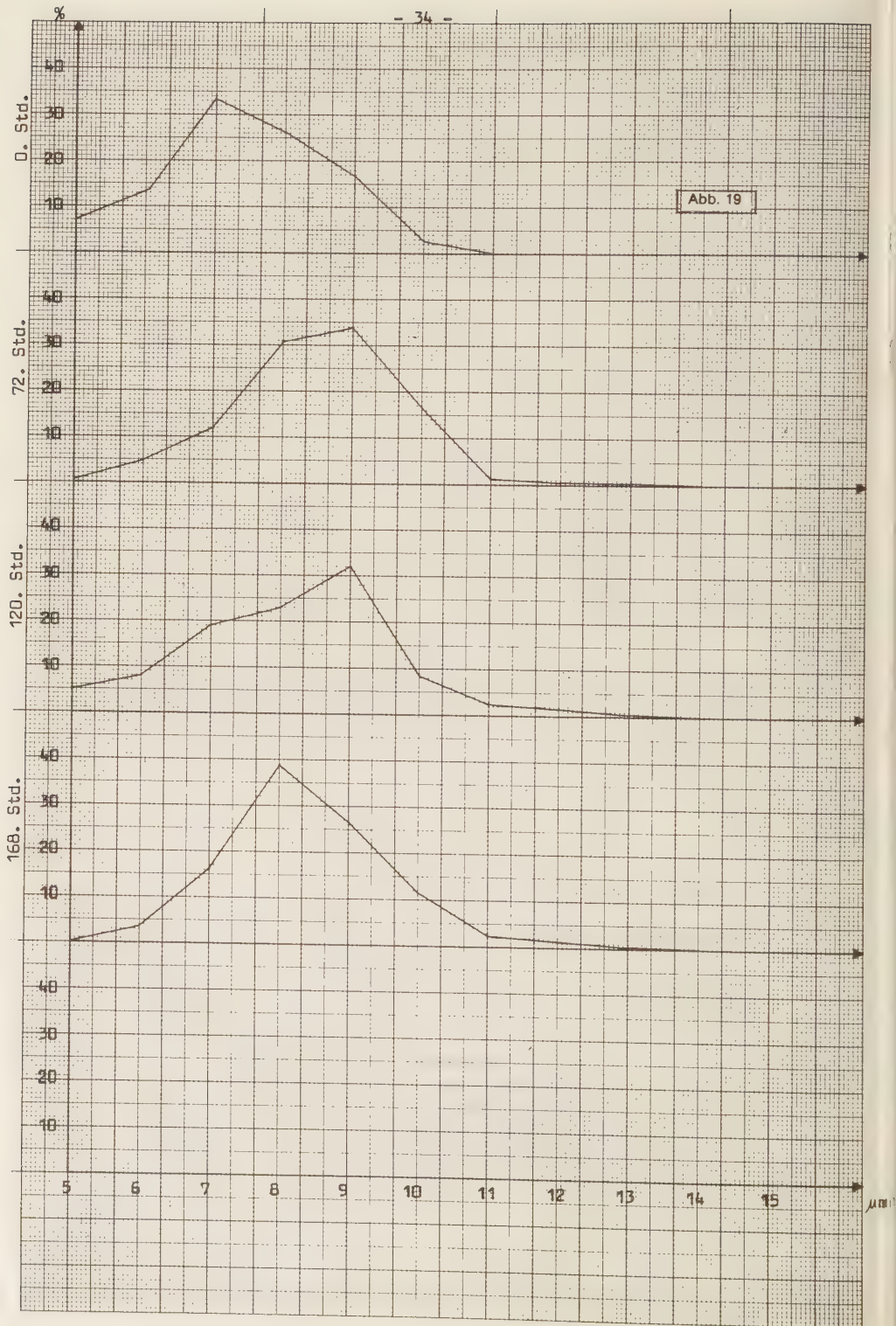
Versuch 7 : LPS-Kultur des Venenblutes des Patienten F.R.

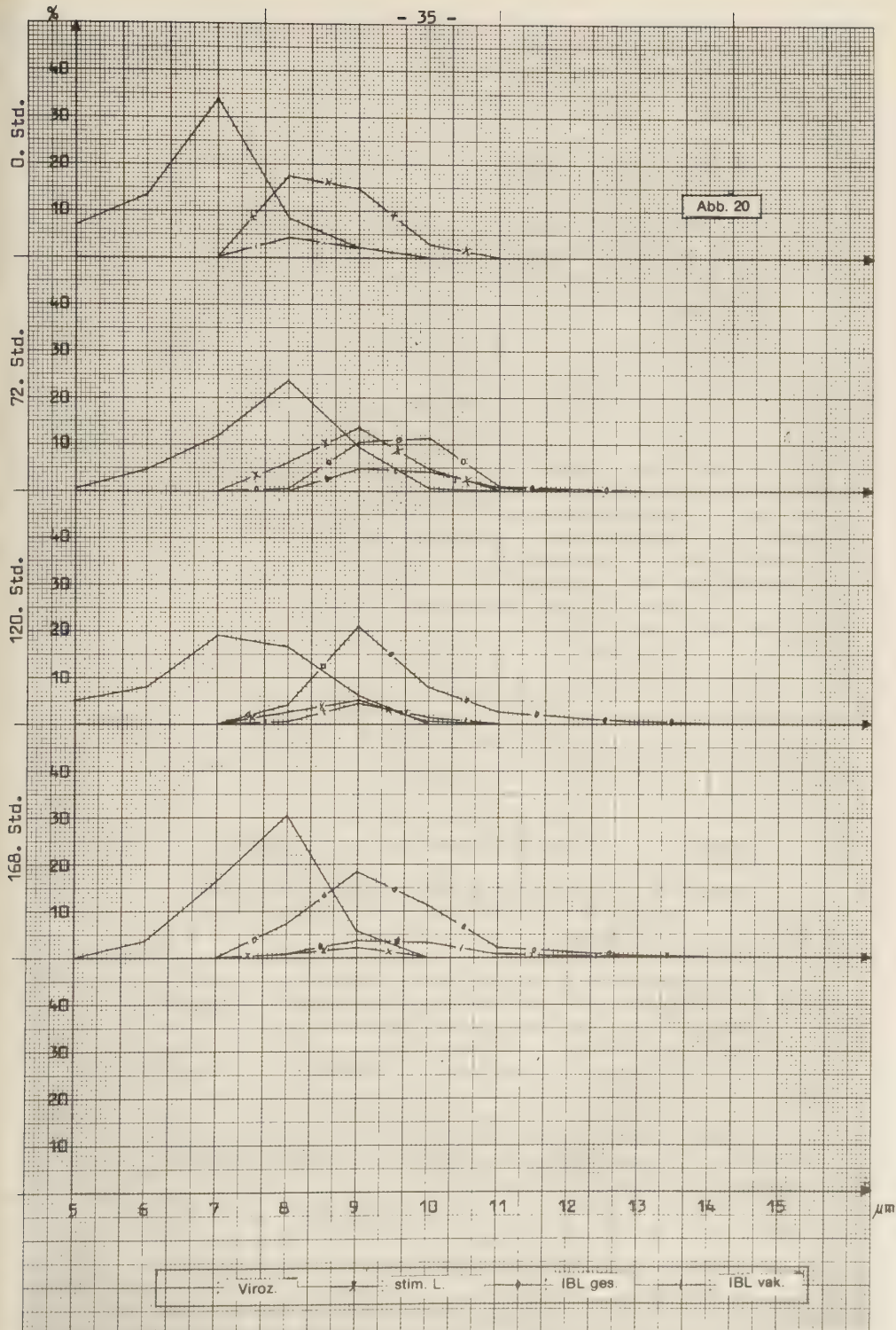
Diagnose : sideroachrestische Anämie

Blutbefunde :

Leukozyten	4000/µl	Lymphozyten	42 %
Stabkernige	10 %	Erythrozyten	3,04 Mio./µl
Segmentkernige	39 %	Hb	10,3 g%
Monozyten	9 %	Thrombozyten	192 000/µl

Dieser Versuch lief ohne Kontrollkulturen und beginnt mit einem mittleren Durchmesser der Zellkerne im G-Stundenpräparat von 7,41 µm. Die Summenkurven (Abb. 19) zeigen uns für die 72. Std. eine Verschiebung des Gipfels der Kurve nach rechts und das Auftreten größerer Zellen. Dies drückt sich aus in der errechneten mittleren Kerngröße von 8,51 µm. Dieser Wert sinkt auf 8,15 µm in der 120. Std., bedingt durch einen





größeren Anteil kleinerer Zellen. Bis zur 168. Std. steigt die Kerngröße nicht signifikant auf 8,39 μ m.

Die Einzelzellkurven zeigen auf, daß die Kultur viele und große Immunoblasten hervorgebracht hat ; ihr Anteil wächst stetig bis auf 40,7 % in der 168. Std. (Abb. 20). Die zu den einzelnen Zeitpunkten errechneten mittleren Kerngrößen, mittleren Fehler und prozentualen Anteile gibt Abb. 21 wieder.

		L P S	
t		mittl. Ø	%
0	Lym.	6,77 $\pm$ 0,10	64,8
	st.L.	8,58 $\pm$ 0,09	35,2
	IBL	/	0
7 2	Lym.	7,76 $\pm$ 0,09	51,0
	st.L.	8,94 $\pm$ 0,09	24,8
	IBL	9,67 $\pm$ 0,12	24,4
1 2 0	Lym.	7,19 $\pm$ 0,11	54,5
	st.L.	8,75 $\pm$ 0,14	8,0
	IBL	9,41 $\pm$ 0,12	37,5
1 6 8	Lym.	7,69 $\pm$ 0,06	56,0
	st.L.	8,71 $\pm$ 0,18	3,1
	IBL	9,35 $\pm$ 0,11	40,7

Abb. 21

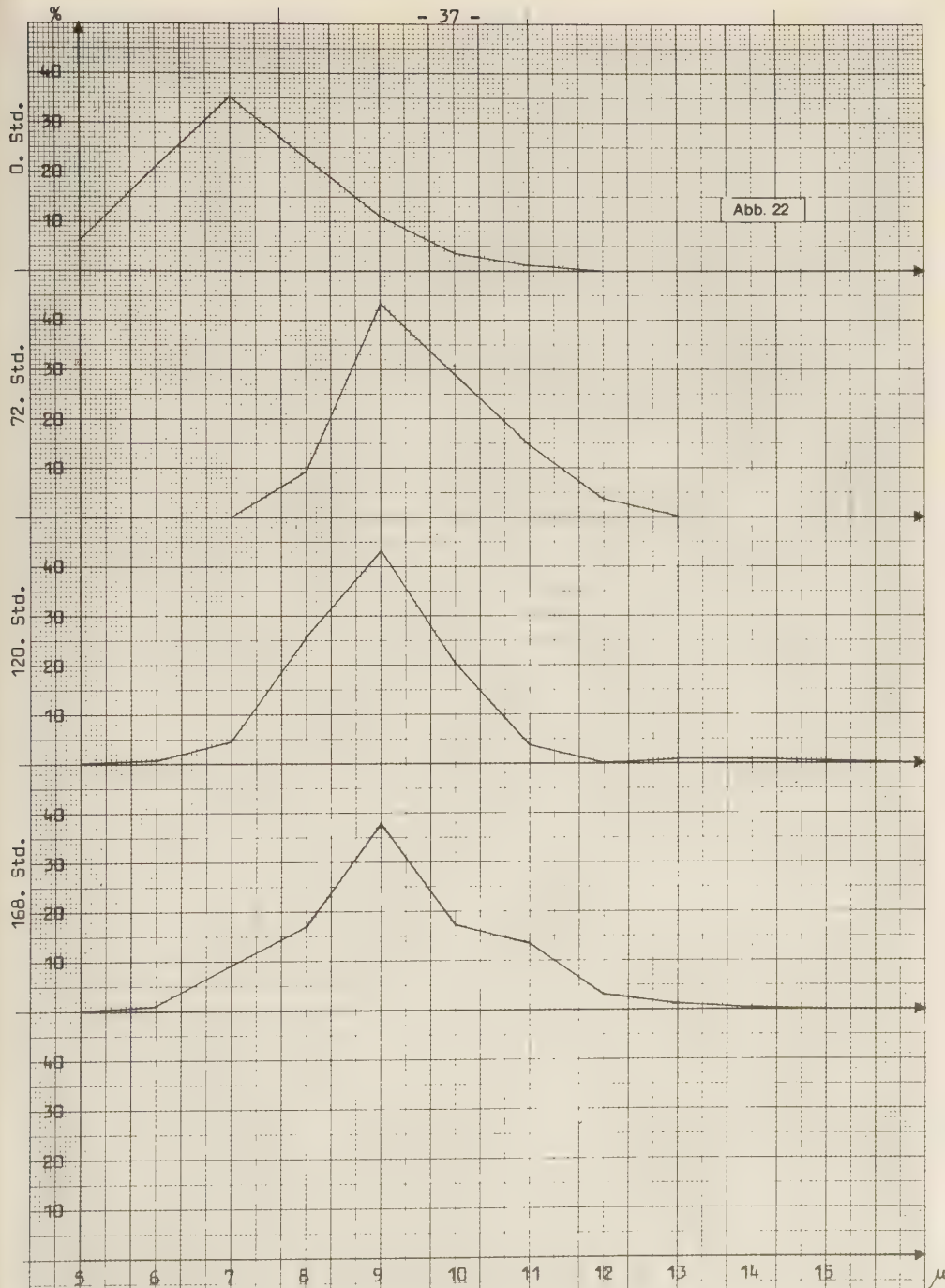
Versuch 8 : LPS-Kultur des Venenblutes der Patientin E.K.

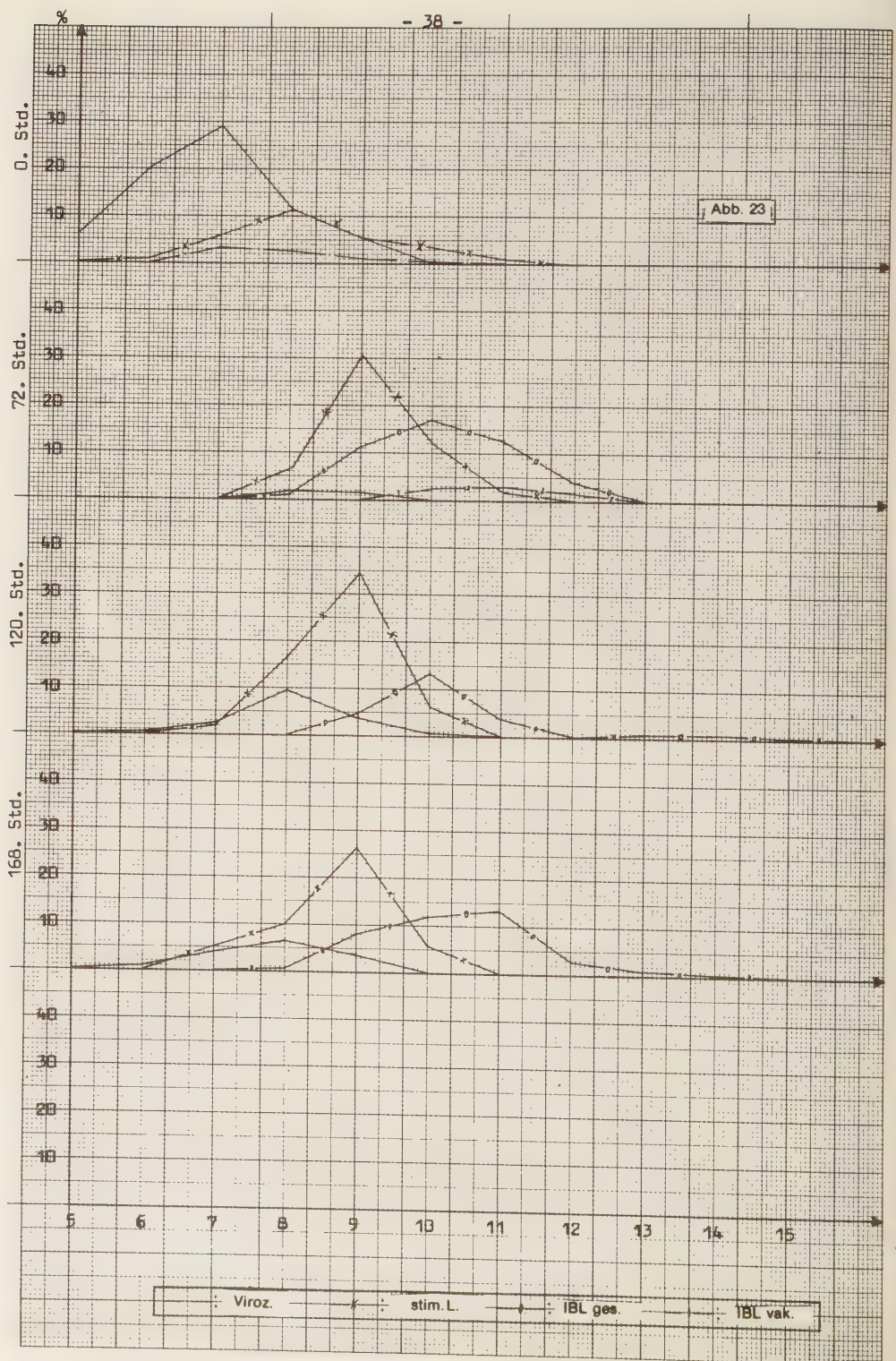
Diagnose : Kleinzellige Retikuloze ; Zustand nach Splenektomie ; histologisch Lymphadenose

Blutbefunde :

Leukozyten	8200/ μ l	Eosinophile	1 %
Segmentkernige	28 %	Erythrozyten	4,00 Mio./ μ l
Monozyten	3 %	Retikulozyten	35 %
Lymphozyten	68 %	Hb	11,8 g%
		Thrombozyten	130 000/ μ l

Auch dieser Versuch lief ohne Kontrollen. Wir finden im O-Stundenpräparat wieder Zellen, deren Kerne eine Variationsbreite von 5 - 11 μ m haben, bei einem mittleren Kerndurchmesser von 7,26 μ m.





In den Summenkurven (Abb. 22) drückt sich nun zunächst ein kräftiges Ansteigen der Zellkerngrößen durch eine starke Verschiebung nach rechts aus. Rechnerisch steigt die mittlere Kerngröße auf $9,61 \mu\text{m}$ (natürlich signifikant). Dieser Wert fällt bis zur 120. Std. signifikant auf $9,03 \mu\text{m}$, um dann bis zur 168. Std. noch einmal geringfügig und unsignifikant auf $9,22 \mu\text{m}$ anzusteigen.

Die Einzelzellkurven (Abb. 23) zeigen wieder ein kräftiges Wachstum von Immunoblasten, die bis zu $15 \mu\text{m}$ Größe erreichen. Ihr prozentualer Anteil schwankt und ist mit 45,7 % in der 72. Std. am größten. (Abb. 24)

t		L P S	
		mittl. $\bar{x}$	%
0	Lym.	$6,87 \pm 0,09$	71,7
	st.L.	$8,26 \pm 0,15$	28,3
	IBL	/	0
72	Lym.	$8,43 \pm 0,20$	3,4
	st.L.	$9,19 \pm 0,07$	50,9
	IBL	$10,16 \pm 0,10$	45,7
168	Lym.	$8,09 \pm 0,12$	16,8
	st.L.	$8,76 \pm 0,06$	56,8
	IBL	$10,33 \pm 0,19$	24,5
268	Lym.	$7,83 \pm 0,16$	15,0
	st.L.	$8,69 \pm 0,08$	46,9
	IBL	$10,40 \pm 0,13$	38,3

Abb. 24

+++
++
+

V ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

Es wurde 8 Patienten mit verschiedenen Systemerkrankungen Venenblut entnommen zum Ansetzen von LPS-Blutkulturen. Bei den meisten LPS-Kulturen liefen gleichzeitig Blutkulturen mit, die keinen LPS-Zusatz bekommen hatten und zur Kontrolle dienten.

In der Regel wurden nach 72, 120, 168 und 216 Stunden den Kulturen Proben entnommen und Ausstriche hergestellt. Von jedem Ausstrich wurden ca. 200 Zellen differenziert und mit dem Okularmikrometer ausgemessen. Somit stützen sich die Ergebnisse auf die Differenzierung und Messung von ca. 12 000 Zellkernen und die dazugehörigen Signifikanzberechnungen.

Es sollte nun untersucht werden, inwieweit der LPS-Zusatz die Stimulierung der Lymphozyten und die Entwicklung von Immunblasten gefördert hat.

Betrachten wir nun zunächst die 0-Stundenpräparate der einzelnen Versuche, die ja den Ausgangspunkt bilden. Der Anteil der Lymphozyten schwankt bei 6 von 8 Versuchen zwischen 60,9 und 80 %, dementsprechend verhält sich der Anteil der stimulierten Lymphozyten bzw. Lymphoidzellen. Bei Versuch 4 und 5 (behandelte perniziöse Anämie, Panmyelophthase) aber haben wir einen wesentlich geringeren Anteil der Lymphozyten, nämlich 39,9 % und 36,0 %. Zudem gibt es hier im Ausgangspräparat Immunblasten, nämlich 5 % in Versuch 4 und 4 % in Versuch 5. Es scheint, als seien die Lymphozyten schon stimuliert gewesen, als die Blutprobe dem Patienten entnommen wurde. Die mittlere Kerngröße der Lymphozyten in den 0-Stundenpräparaten schwankt zwischen 6,77 μm und 7,97 μm , Variationsbreite von 5 μm - 10 μm . Die mittlere Kerngröße der stimulierten Lymphozyten liegt zwischen 8,14 μm und 9,55 μm . Variationsbreite 6 μm - 12 μm .

Im weiteren Verlauf der Versuche kann nun wohl eine durchweg gute Stimulierung der LPS-Kulturen beobachtet werden, eine stürmische Entwicklung, wie wir sie von den Phytohämagglutinin- und Concanavalin-Kulturen her kennen, bleibt aber aus. Es kommt auch nicht vor, daß in einem Ausstrich zwei Zellarten (z.B. Lymphozyten und stimulierte Lymphozyten) völlig fehlen, bis auf zwei Ausnahmen sind Lymphozyten, stimulierte Lymphozyten und Immunblasten, allerdings in ständig wechselnden Verhältnissen, vertreten.

Auch muß hervorgehoben werden, daß in den Kontrollkulturen ohne LPS-Zusatz Immunblasten bis zu einem Anteil von 44,5 % auftraten. Es muß also im Nährmedium oder im Antibiotikazusatz noch einen Faktor geben, der eine Stimulation hervorrufen kann. Möglicherweise ist auch das Venenblut von Patienten mit lymphatischen Systemerkrankungen für Spontanstimulation prädestiniert.

Auffallend ist fernerhin, daß nur eine Mitose beobachtet wurde (Immunblast, Versuch 2, 120. Std., LPS-Zusatz).

Richten wir nun unser Augenmerk zunächst auf die mengenmäßigen Anteile, die von den Immunoblasten zu den einzelnen Versuchszeitpunkten erreicht werden. Bei Versuch 1 erreichen die Immunoblasten in der LPS-Kultur die sehr hohen Anteile von 68,7 % (72. Std.), 62,4 % (168. Std.) und 61,5 % (216. Std.). Die entsprechenden Zahlen der Kontrollkultur liegen bei 44,5 % (72. Std.) und 33,8 % (168. Std.). Dieser hohe Immunoblastenanteil wurde bei keinem anderen Versuch erreicht. Die nächststärkste Stimulation erreicht Versuch 8 mit 45,7 % in der 72. Std. . Versuch 5 erreicht mit 43,3 % Immunoblasten in der 240. Std. fast genauso viel. Ausser Versuch 1 zeigen von den 5 mit Kontrollen und deswegen mit Signifikanzberechnungen möglichen Versuchen noch Versuch 4 und 5 eine signifikante Vermehrung von Immunoblasten, Versuch 2 eine signifikante Vermehrung von stimulierten Lymphozyten. Nur Versuch 3 hat in der Kontrolle eine stärkere Stimulation, vermutlich infolge der Art der vorliegenden Erkrankung (Lymphosarkom). Die anderen 3 Versuche zeigen eine deutliche Immunblastenentwicklung von 37 - 40 %, die in den Kontrollen nur bei Versuch 1 vorkam. Wenn wir die LPS-Kulturen und die Kontrollkulturen in ihrer Gesamtheit betrachten, so finden wir folgendes : Die Immunoblasten erreichen im Durchschnitt aller Kontrollkulturen nur 13,5 %, im Durchschnitt aller LPS-Kulturen aber 26,2 %, also mithin fast das Doppelte.

Wenden wir uns nun dem größenmäßigen Vergleich der Versuchsergebnisse zu. In Abb. 25 sind die Ergebnisse aller Kernmessungen (außer 0. Stunden), getrennt nach Kontroll- und LPS-Kulturen, festgehalten.

	LYMPHOZYTEN	STIM. LYMPHOZYTEN	IMMUNOBLASTEN
Kontr.	7,50±0,03 5-10 m	8,79±0,03 5-11 m	9,59±0,04 8-14 m
LPS	7,48±0,02 4-10 m	8,69±0,02 5-12 m	9,68±0,03 7-15 m

Abb. 25

Die einzelnen gemessenen Zellarten unterscheiden sich also im Durchschnitt aller Versuche nicht in ihrer Größe. Immunoblasten in Kontrollkulturen und LPS-Kulturen sind durchschnittlich gleich groß. Der Unterschied zwischen LPS-Kulturen und Kontrollkulturen besteht lediglich darin, daß die LPS-Kulturen mehr von den großen Immunoblasten über 11 µm hervorgebracht haben und bei ihnen die Variationsbreite größer ist. Auch die mittleren Kerngrößen der Immunoblasten schwanken bei den einzelnen LPS-Kulturen zwischen 8,73 µm und 12,93 µm, bei den Kontrollkulturen nur zwischen 9,00 µm und 10,83 µm.

In der Zusammenfassung hat der LPS-Zusatz eine stärkere Stimulierung der Kulturen bewirkt, die sich hauptsächlich in dem Auftreten von mehr Immunoblasten und stim. Lymphozyten, geringfügig aber auch in dem Auftreten von besonders großen Immunoblasten ausdrückt. Eine Ausnahme hiervon bildet Versuch 3.

VI DISKUSSION

Die dieser Arbeit zugrunde liegende Fragestellung, ob Lipo-polysaccharide von *E. coli* Lymphozyten aus menschlichem peripheren Blut bei verschiedenen Erkrankungen stimulieren kann, ist zu bejahen. Die LPS-Kulturen haben große Immunoblasten und stimulierte Lymphozyten hervorgebracht in viel größerer Zahl als die Kontrollen unter gleichen Bedingungen. Unterschiede in der Menge lassen sich in 4 von 5 Versuchsserien statistisch sichern. Ein Faktor in den Kontrollkulturen eines malignen Lymphoms muß eine zusätzliche Stimulation bewirkt haben. Dieses Phänomen wurde auch von Oppenheim und Perry (25) beobachtet, wenn auch nur in einem Ausmaß von 3,5 %. Adler u. Smith (21) beobachteten bei Mäusen 5 - 9 % Spontanstimulierung. Boll (persönliche Mitteilung) beobachtet es gelegentlich.

Die zu den Versuchen herangezogenen Patienten waren mit recht unterschiedlichen Systemerkrankungen behaftet, deshalb dürfen sie nicht als ein Kollektiv betrachtet werden. Jeder einzelne Versuch muß gesondert betrachtet werden. Unterstellt man, daß durch LPS nur die B-Zellen stimuliert werden, so müssen im Ausgangspräparat von Versuch 1 erheblich mehr B-Zellen vorhanden gewesen sein. Williams et al. (8) finden allerdings bei Patienten mit systemischem Lupus erythematoses die B-Zellen nicht erhöht. Bei dieser Arbeit standen die Patienten aber zum Versuchszeitpunkt unter Immunsuppressions- und Kortisontherapie, ein Umstand, der die Vergleichbarkeit der Ergebnisse erschwert, wenn nicht unmöglich macht.

Die maximalen Prozentzahlen für die Immunoblasten schwanken, mit Ausnahme von Versuch 1, um 40 %. Das heißt bei der Annahme, daß LPS nur B-Zellen stimuliert, daß im Ausgangspräparat auch ungefähr 40 % B-Lymphozyten vorhanden gewesen sein müssen. Die Japaner Tachibana u. Tshikawa (12) fanden bei gesunden Versuchspersonen $39,3 \pm 6,4$ % B-Zellen, ein Wert, der mit den in dieser Arbeit gefundenen korreliert. Dieses Ergebnis wurde mit einer verfeinerten Methode der Rosettenbildung der B-Zellen mit Schäferythrozyten gefunden. Wilson u. Nossal (20) fanden mit einer radioimmunologischen Methode im peripheren menschlichen Blut im Durchschnitt 34 % Zellen, die eine hohe Dichte von Oberflächenimmunglobulinen haben und als B-Zellen angesehen wurden. Williams et al. (8) fanden mit einer etwas unzuverlässigen Immunofluoreszenzmethode ca. 23 % B-Zellen bei Gesunden. Michlmayer et al. (4) fanden 23 - 58 % mit Schäferythrozyten Rosetten bildende Zellen bei Gesunden.

Die Gruppe um Michlmayer arbeitete unter anderem mit an Sepharose gebundenem Phytohämagglutinin (PHA), das in diesem Zustand einen guten stimulatorischen Effekt auf B-Zellen hatte. Greaves u. Bauminger (19) fanden auch bei Mäusen ein gutes Ansprechen der B-Zellen (!) auf an Sepharose gebundenes PHA. Die Sepharose soll nach ihrer Meinung durch cross-linkage die Bindung des PHA auch an die B-Zell-Membran ermöglichen. Vielleicht ist mit an Sepharose gebundenem PHA ein geeignetes Mittel zur selektiven Stimulierung menschlicher B-Lymphozyten gefunden.

Eine andere Möglichkeit zur selektiven Stimulierung von B-Zellen liegt möglicherweise in der Verwendung von Dextransulfat oder doppelendiger Polynukleotide. Untersuchungen mit diesen Substanzen wurden von der Gruppe um T. Diamantstein (7, 9, 10, 11) mit Mäusen durchgeführt. Doppelendige Polynukleotide und Dextransulfat wirken bei Mäusen ähnlich wie LPS auf B-Zellen.

Im Vergleich zu anderen Untersuchungen (2, 6) mit PHA wurde das Auftreten von kleinen, als Immunozyten bezeichneten Zellen nicht beobachtet. Die zu späteren Versuchszeitpunkten auftretenden kleinen Zellen zeigen nicht die typischen Merkmale, wie sie von Jonasson herausgearbeitet wurden. Ob bei noch längerer Versuchsdauer vielleicht doch den Immunozyten ähnliche Zellen auftreten, ist nicht mit Sicherheit auszuschließen, weil ein späteres Ansprechen der B-Lymphozyten als der T-Lymphozyten auf die Stimulation offensichtlich zu sein scheint (14, 22). Pokeweed-Stimulation, bei der ja T- und B-Zellen ansprechen, bewirkt das Entstehen zweier unterschiedlicher, auch elektronenmikroskopisch unterscheidbarer Arten von transformierten Zellen (14). Der plateauartige Verlauf der Stimulationskurve spricht für das zeitlich unterschiedliche Ansprechen der Zellpopulationen. Möller (22) machte mit gegen *Salmonella typhosa* - Antigen sensibilisierten Personen Versuche. Dieses Antigen erreichte nach 5 - 7 Tagen sein stimulatorisches Wirkungsoptimum (DNS-Synthese), nichtspezifische Mitogene erreichten es nach 2 - 3 Tagen, auch ein Hinweis für die insgesamt langsamere Reaktionsweise der B-Zellen. Montag (1) fand in seinen Untersuchungen mit *Salmonella typhosa*-Antigen keine Immunozyten oder eine erhebliche Verkleinerung der Zellen zu späteren Versuchszeitpunkten. Plasmazellen wurden zu keinem Zeitpunkt der Versuche beobachtet.

+ + +
+ +
+

VII ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden Blutkulturen von Venenblutproben von 8 mit verschiedenen Systemerkrankungen behafteten Versuchspersonen untersucht.

Zu den verschiedenen Versuchszeitpunkten wurden die in den Kulturen enthaltenen lymphozytären Elemente differenziert und quantitativ bestimmt sowie deren Kerndurchmesser ermittelt. Der gefundene Kerndurchmesser war ein zusätzliches Hilfsmittel bei der Differenzierung der Zellen.

Ziel der Arbeit war es, die Wirkung von Lipopolysaccharid auf menschliche Lymphozyten zu untersuchen. Es wurde Lipopolysaccharid von *Escherichia coli* (Difco, Detroit/Mich.) verwendet. Ohne Lipopolysaccharid durchgeführte Kontrollkulturen dienten dazu, durch Signifikanzberechnungen die Wirkung des Lipopolysaccharids zu verifizieren.

Die aufgeworfene Frage, ob das verwendete LPS Lymphozyten stimulieren kann, muß bei 7 der 8 Versuche bejaht werden und ist in 4 Versuchen mit Signifikanzberechnungen belegbar. Die verhältnismäßig hohe Spontanstimulierung in den Kontrollkulturen eines Versuches erschwerte die Beurteilung dieses Lymphoms.

In Hinsicht auf die Menge an B-Lymphozyten, die im O-Stundenpräparat vorhanden gewesen sein müssen, besteht eine Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren.

+ + +
+ +
+

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie EURATOM-GSF,
Nr. 031-64-1 BIAD.

Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt.

VIII ANHANG

SUMMENKURVEN

Versuch 1 - LPS-Zusatz

0.Std.

5,0 μm	=	4	=	1,9 %
6,0 μm	=	36	=	17,2 %
7,0 μm	=	83	=	39,7 %
8,0 μm	=	48	=	22,9 %
9,0 μm	=	25	=	11,9 %
10,0 μm	=	12	=	5,7 %
11,0 μm	=	1	=	0,5 %
				<u>209</u>

32 Stab/587 Seg/5 Eos/
2 Bes/33 Mon

72.Std.

6,0 μm	=	1	=	0,5 %
7,0 μm	=	6	=	2,9 %
8,0 μm	=	32	=	15,7 %
9,0 μm	=	93	=	45,6 %
10,0 μm	=	57	=	27,9 %
11,0 μm	=	10	=	4,9 %
12,0 μm	=	3	=	1,5 %
13,0 μm	=	2	=	0,9 %
				<u>204</u>

120.Std.

5,0 μm	=	7	=	3,5 %
6,0 μm	=	14	=	6,9 %
7,0 μm	=	47	=	23,4 %
8,0 μm	=	57	=	28,4 %
9,0 μm	=	54	=	26,9 %
10,0 μm	=	15	=	7,5 %
11,0 μm	=	3	=	1,5 %
12,0 μm	=	2	=	0,9 %
13,0 μm	=	2	=	0,9 %
				<u>201</u>

168.Std.

7,0 μm	=	22	=	9,2 %
8,0 μm	=	55	=	23,1 %
9,0 μm	=	116	=	48,7 %
10,0 μm	=	28	=	11,8 %
11,0 μm	=	11	=	4,6 %
12,0 μm	=	3	=	1,3 %
13,0 μm	=	2	=	0,8 %
14,0 μm	=	1	=	0,4 %
				<u>238</u>

216.Std.

5,0 μm	=	13	=	6,4 %
6,0 μm	=	22	=	10,9 %
7,0 μm	=	30	=	14,9 %
8,0 μm	=	27	=	13,4 %
9,0 μm	=	36	=	17,8 %
10,0 μm	=	27	=	13,4 %
11,0 μm	=	26	=	12,9 %
12,0 μm	=	13	=	6,4 %
13,0 μm	=	4	=	2,0 %
14,0 μm	=	3	=	1,5 %
15,0 μm	=	1	=	0,5 %
				<u>202</u>

SUMMENKURVEN

Versuch 1 - Kontrolle

24.Std.

6,0	μm	= 10	= 4,9 %
7,0	μm	= 31	= 15,3 %
8,0	μm	= 76	= 37,6 %
9,0	μm	= 66	= 32,7 %
10,0	μm	= 19	= 9,4 %
		<u>202</u>	
		===	

48.Std.

5,0	μm	= 15	= 7,5 %
6,0	μm	= 29	= 14,4 %
7,0	μm	= 57	= 28,4 %
8,0	μm	= 66	= 32,8 %
9,0	μm	= 31	= 15,4 %
10,0	μm	= 3	= 1,5 %
		<u>201</u>	
		===	

72.Std.

7,0	μm	= 9	= 4,3 %
8,0	μm	= 56	= 26,8 %
9,0	μm	= 93	= 44,5 %
10,0	μm	= 40	= 19,1 %
11,0	μm	= 10	= 4,8 %
12,0	μm	= 1	= 0,5 %
		<u>209</u>	
		===	

120.Std.

6,0	μm	= 24	= 11,7 %
7,0	μm	= 76	= 36,9 %
8,0	μm	= 54	= 26,2 %
9,0	μm	= 32	= 15,5 %
10,0	μm	= 12	= 5,8 %
11,0	μm	= 6	= 2,9 %
12,0	μm	= 2	= 1,0 %
		<u>206</u>	
		===	

168.Std.

5,0	μm	= 12	= 6,5 %
6,0	μm	= 45	= 24,2 %
7,0	μm	= 54	= 29,0 %
8,0	μm	= 9	= 4,8 %
9,0	μm	= 36	= 19,4 %
10,0	μm	= 30	= 16,1 %
		<u>186</u>	
		===	

SUMMENKURVEN

Versuch 2 - LPS-Zusatz

0.Std.

5,0 μm	= 2	= 0,9 %
6,0 μm	= 37	= 16,4 %
7,0 μm	= 102	= 45,3 %
8,0 μm	= 57	= 25,3 %
9,0 μm	= 21	= 9,3 %
10,0 μm	= 6	= 2,7 %

225

1 Meta/26 Stab/334 Seg/
14 Eos/3 Bas/41 Mon

168.Std.

8,0 μm	= 29	= 15,1 %
9,0 μm	= 54	= 28,1 %
10,0 μm	= 67	= 34,9 %
11,0 μm	= 16	= 8,3 %
12,0 μm	= 9	= 4,7 %
13,0 μm	= 3	= 1,6 %
14,0 μm	= 5	= 2,6 %
15,0 μm	= 4	= 2,1 %

192

72.Std.

7,0 μm	= 6	= 3,0 %
8,0 μm	= 45	= 22,3 %
9,0 μm	= 96	= 47,5 %
10,0 μm	= 49	= 24,3 %
11,0 μm	= 5	= 2,5 %
12,0 μm	= 1	= 0,5 %

202

120.Std.

6,0 μm	= 8	= 4,0 %
7,0 μm	= 21	= 10,5 %
8,0 μm	= 41	= 20,5 %
9,0 μm	= 61	= 30,5 %
10,0 μm	= 46	= 23,0 %
11,0 μm	= 11	= 5,5 %
12,0 μm	= 8	= 4,0 %
13,0 μm	= 3	= 1,5 %
14,0 μm	= 1	= 0,5 %

200

216.Std.

5,0 μm	= 8	= 4,1 %
6,0 μm	= 24	= 12,3 %
7,0 μm	= 43	= 22,2 %
8,0 μm	= 40	= 20,6 %
9,0 μm	= 43	= 22,2 %
10,0 μm	= 21	= 10,8 %
11,0 μm	= 4	= 2,1 %
12,0 μm	= 4	= 2,1 %
13,0 μm	= 5	= 2,6 %
14,0 μm	= 2	= 1,0 %

194

SUMMENKURVEN

Versuch 2 - Kontrolle

48.Std.

7,0	μm	= 12	= 5,9	%
8,0	μm	= 57	= 28,1	%
9,0	μm	= 109	= 53,7	%
10,0	μm	= 24	= 11,8	%
11,0	μm	= 1	= 0,5	%
		<u>203</u>		

72.Std.

7,0	μm	= 5	= 2,6	%
8,0	μm	= 38	= 20,1	%
9,0	μm	= 84	= 44,4	%
10,0	μm	= 54	= 28,5	%
11,0	μm	= 8	= 4,2	%
		<u>189</u>		

120.Std.

6,0	μm	= 14	= 8,3	%
7,0	μm	= 36	= 21,4	%
8,0	μm	= 62	= 36,9	%
9,0	μm	= 42	= 25,0	%
10,0	μm	= 6	= 3,6	%
11,0	μm	= 4	= 2,4	%
12,0	μm	= 4	= 2,4	%
		<u>168</u>		

SUMMENKURVEN

Versuch 3 - LPS-Zusatz

0.Std.

5,0 μm	=	3	=	1,6 %
6,0 μm	=	11	=	5,8 %
7,0 μm	=	26	=	13,7 %
8,0 μm	=	55	=	28,9 %
9,0 μm	=	59	=	31,1 %
10,0 μm	=	28	=	14,7 %
11,0 μm	=	7	=	3,7 %
12,0 μm	=	1	=	0,5 %
				<u>190</u>
				===

3 Stab/84 Seg/12 Eos/
1 Bas/14 Mon

72.Std.

6,0 μm	=	1	=	0,5 %
7,0 μm	=	11	=	5,8 %
8,0 μm	=	56	=	29,3 %
9,0 μm	=	74	=	38,7 %
10,0 μm	=	39	=	20,4 %
11,0 μm	=	6	=	3,1 %
12,0 μm	=	1	=	0,5 %
13,0 μm	=	2	=	1,0 %
14,0 μm	=	1	=	0,5 %
				<u>191</u>
				===

120.Std.

5,0 μm	=	5	=	2,5 %
6,0 μm	=	21	=	10,5 %
7,0 μm	=	58	=	29,0 %
8,0 μm	=	79	=	39,5 %
9,0 μm	=	30	=	15,0 %
10,0 μm	=	5	=	2,5 %
11,0 μm	=	1	=	0,5 %
12,0 μm	=	1	=	0,5 %
				<u>200</u>
				===

168.Std.

6,0 μm	=	2	=	0,9 %
7,0 μm	=	5	=	2,3 %
8,0 μm	=	69	=	31,9 %
9,0 μm	=	88	=	40,7 %
10,0 μm	=	50	=	23,1 %
11,0 μm	=	2	=	0,9 %
				<u>216</u>
				===

240.Std.

5,0 μm	=	7	=	3,5 %
6,0 μm	=	29	=	14,5 %
7,0 μm	=	60	=	30,0 %
8,0 μm	=	53	=	26,5 %
9,0 μm	=	41	=	20,5 %
10,0 μm	=	10	=	5,0 %
				<u>200</u>
				===

SUMMENKURVEN

Versuch 3 - Kontrolle

24.Std.

6,0	μm	=	3	=	1,5 %
7,0	μm	=	31	=	15,5 %
8,0	μm	=	70	=	35,0 %
9,0	μm	=	76	=	38,0 %
10,0	μm	=	19	=	9,5 %
11,0	μm	=	1	=	0,5 %
				<u>200</u>	
				<u>==</u>	

72.Std.

7,0	μm	=	4	=	2,0 %
8,0	μm	=	20	=	10,1 %
9,0	μm	=	83	=	41,7 %
10,0	μm	=	80	=	40,2 %
11,0	μm	=	12	=	6,0 %
				<u>199</u>	
				<u>==</u>	

120.Std.

5,0	μm	=	12	=	5,9 %
6,0	μm	=	21	=	10,3 %
7,0	μm	=	79	=	38,9 %
8,0	μm	=	66	=	32,5 %
9,0	μm	=	21	=	10,3 %
10,0	μm	=	2	=	1,0 %
11,0	μm	=	1	=	0,5 %
12,0	μm	=	1	=	0,5 %
				<u>203</u>	
				<u>==</u>	

168.Std.

6,0	μm	=	1	=	0,5 %
7,0	μm	=	12	=	6,0 %
8,0	μm	=	38	=	19,0 %
9,0	μm	=	90	=	45,0 %
10,0	μm	=	55	=	27,5 %
11,0	μm	=	4	=	2,0 %
				<u>200</u>	
				<u>==</u>	

240.Std.

5,0	μm	=	2	=	0,9 %
6,0	μm	=	6	=	2,8 %
7,0	μm	=	18	=	8,5 %
8,0	μm	=	86	=	40,6 %
9,0	μm	=	79	=	37,3 %
10,0	μm	=	19	=	8,9 %
11,0	μm	=	2	=	0,9 %
				<u>212</u>	
				<u>==</u>	

SUMMENKURVEN

Versuch 4 - LPS-Zusatz

0.Std.

5,0	μm	=	2	=	1,0 %
6,0	μm	=	13	=	6,5 %
7,0	μm	=	26	=	13,0 %
8,0	μm	=	58	=	28,9 %
9,0	μm	=	54	=	26,9 %
10,0	μm	=	39	=	19,4 %
11,0	μm	=	9	=	4,5 %
<u>201</u>					
===					

2 Stab/61 Seg/3 Eos/

1 Bas/9Mon

72.Std.

5,0	μm	=	2	=	1,0 %
6,0	μm	=	10	=	5,0 %
7,0	μm	=	25	=	12,4 %
8,0	μm	=	66	=	32,8 %
9,0	μm	=	68	=	33,8 %
10,0	μm	=	24	=	11,9 %
11,0	μm	=	5	=	2,5 %
12,0	μm	=	1	=	0,5 %
<u>201</u>					
===					

120.Std.

5,0	μm	=	1	=	0,5 %
6,0	μm	=	3	=	1,5 %
7,0	μm	=	10	=	5,0 %
8,0	μm	=	54	=	26,7 %
9,0	μm	=	84	=	41,6 %
10,0	μm	=	43	=	21,3 %
11,0	μm	=	7	=	3,5 %
<u>202</u>					
===					

168.Std.

5,0	μm	=	4	=	2,0 %
6,0	μm	=	37	=	18,3 %
7,0	μm	=	61	=	30,2 %
8,0	μm	=	70	=	34,7 %
9,0	μm	=	26	=	12,9 %
10,0	μm	=	4	=	2,0 %
<u>202</u>					
===					

Versuch 4 - Kontrolle

24.Std.

5,0	μm	=	2	=	1,0 %
6,0	μm	=	19	=	9,3 %
7,0	μm	=	30	=	14,6 %
8,0	μm	=	48	=	23,4 %
9,0	μm	=	59	=	28,8 %
10,0	μm	=	35	=	17,1 %
11,0	μm	=	10	=	4,9 %
12,0	μm	=	2	=	1,0 %
<u>205</u>					
===					

72.Std.

6,0	μm	=	4	=	2,0 %
7,0	μm	=	34	=	16,8 %
8,0	μm	=	58	=	28,7 %
9,0	μm	=	60	=	29,7 %
10,0	μm	=	36	=	17,8 %
11,0	μm	=	7	=	3,5 %
12,0	μm	=	2	=	1,0 %
13,0	μm	=	1	=	0,5 %
<u>202</u>					
===					

120.Std.

5,0	μm	=	13	=	6,3 %
6,0	μm	=	21	=	10,1 %
7,0	μm	=	39	=	18,8 %
8,0	μm	=	62	=	30,0 %
9,0	μm	=	53	=	25,6 %
10,0	μm	=	14	=	6,8 %
11,0	μm	=	2	=	1,0 %
12,0	μm	=	1	=	0,5 %
13,0	μm	=	1	=	0,5 %
14,0	μm	=	1	=	0,5 %
<u>207</u>					
===					

168.Std.

6,0	μm	=	2	=	1,0 %
7,0	μm	=	25	=	12,3 %
8,0	μm	=	57	=	28,1 %
9,0	μm	=	82	=	40,4 %
10,0	μm	=	30	=	14,8 %
11,0	μm	=	4	=	1,8 %
12,0	μm	=	2	=	1,0 %
13,0	μm	=	1	=	0,5 %
<u>203</u>					
===					

SUMMENKURVEN

Versuch 5 - LPS-Zusatz

0.Std.

6,0	μm	=	2	=	1,0	%
7,0	μm	=	25	=	12,5	%
8,0	μm	=	69	=	34,5	%
9,0	μm	=	69	=	34,5	%
10,0	μm	=	29	=	14,5	%
11,0	μm	=	6	=	3,0	%
				<u>200</u>		

192.Std.

5,0	μm	=	6	=	2,9	%
6,0	μm	=	20	=	9,7	%
7,0	μm	=	51	=	24,6	%
8,0	μm	=	69	=	33,3	%
9,0	μm	=	55	=	26,6	%
10,0	μm	=	6	=	2,9	%
				<u>207</u>		

72.Std.

6,0	μm	=	12	=	5,9	%
7,0	μm	=	36	=	17,7	%
8,0	μm	=	78	=	38,4	%
9,0	μm	=	63	=	31,0	%
10,0	μm	=	12	=	5,9	%
11,0	μm	=	2	=	1,0	%
				<u>203</u>		

240.Std.

5,0	μm	=	4	=	2,0	%
6,0	μm	=	19	=	9,5	%
7,0	μm	=	29	=	14,4	%
8,0	μm	=	60	=	29,9	%
9,0	μm	=	63	=	31,3	%
10,0	μm	=	25	=	12,4	%
11,0	μm	=	1	=	0,5	%
				<u>201</u>		

144.Std.

4,0	μm	=	1	=	0,5	%
5,0	μm	=	8	=	4,0	%
6,0	μm	=	16	=	8,0	%
7,0	μm	=	31	=	15,4	%
8,0	μm	=	53	=	26,4	%
9,0	μm	=	65	=	32,3	%
10,0	μm	=	24	=	11,9	%
11,0	μm	=	3	=	1,5	%
				<u>201</u>		

SUMMENKURVEN

Versuch 5 - Kontrolle

24.Std.

5,0	μm	=	4	=	2,0 %
6,0	μm	=	30	=	14,9 %
7,0	μm	=	63	=	31,2 %
8,0	μm	=	66	=	32,7 %
9,0	μm	=	30	=	14,9 %
10,0	μm	=	6	=	3,0 %
11,0	μm	=	2	=	1,0 %
12,0	μm	=	1	=	0,5 %
				<u>202</u>	
				<u>==</u>	

48.Std.

5,0	μm	=	4	=	2,0 %
6,0	μm	=	37	=	18,1 %
7,0	μm	=	69	=	33,8 %
8,0	μm	=	78	=	38,2 %
9,0	μm	=	14	=	6,9 %
10,0	μm	=	2	=	1,0 %
				<u>204</u>	
				<u>==</u>	

72.Std.

5,0	μm	=	15	=	7,3 %
6,0	μm	=	24	=	11,7 %
7,0	μm	=	50	=	24,4 %
8,0	μm	=	74	=	36,1 %
9,0	μm	=	37	=	18,0 %
10,0	μm	=	5	=	2,4 %
				<u>205</u>	
				<u>==</u>	

SUMMENKURVEN

Versuch 6 - LPS-Zusatz

0.Std.

6,0	μm	=	2	=	1,0 %
7,0	μm	=	35	=	17,4 %
8,0	μm	=	76	=	37,8 %
9,0	μm	=	71	=	35,3 %
10,0	μm	=	15	=	7,5 %
11,0	μm	=	2	=	1,0 %
<u>201</u>					

2 Stab/952 Seg/36 Eos/
72 Mono

72.Std.

nicht auswertbar weil
technisch mißraten :
"Schrumpf"-Formen !

120.Std.

6,0	μm	=	3	=	1,4 %
7,0	μm	=	14	=	6,4 %
8,0	μm	=	74	=	33,8 %
9,0	μm	=	75	=	34,2 %
10,0	μm	=	35	=	16,0 %
11,0	μm	=	12	=	5,5 %
12,0	μm	=	3	=	1,4 %
13,0	μm	=	1	=	0,5 %
14,0	μm	=	1	=	0,5 %
15,0	μm	=	1	=	0,5 %
<u>219</u>					

168.Std.

7,0	μm	=	2	=	1,0 %
8,0	μm	=	26	=	12,8 %
9,0	μm	=	97	=	47,8 %
10,0	μm	=	54	=	26,6 %
11,0	μm	=	17	=	8,4 %
12,0	μm	=	3	=	1,5 %
13,0	μm	=	2	=	1,0 %
14,0	μm	=	1	=	0,5 %
15,0	μm	=	1	=	0,5 %
<u>203</u>					

240.Std.

5,0	μm	=	4	=	2,0 %
6,0	μm	=	14	=	6,8 %
7,0	μm	=	28	=	13,7 %
8,0	μm	=	67	=	32,7 %
9,0	μm	=	65	=	31,7 %
10,0	μm	=	19	=	9,3 %
11,0	μm	=	8	=	3,9 %
<u>205</u>					

Versuch 6 - Kontrolle

24.Std.

5,0	μm	=	1	=	0,5 %
6,0	μm	=	1	=	0,5 %
7,0	μm	=	8	=	4,0 %
8,0	μm	=	42	=	20,9 %
9,0	μm	=	88	=	43,8 %
10,0	μm	=	48	=	23,9 %
11,0	μm	=	12	=	6,0 %
12,0	μm	=	1	=	0,5 %
<u>201</u>					

72.Std.

5,0	μm	=	3	=	1,4 %
6,0	μm	=	7	=	3,3 %
7,0	μm	=	22	=	10,5 %
8,0	μm	=	94	=	45,0 %
9,0	μm	=	60	=	28,7 %
10,0	μm	=	20	=	9,6 %
11,0	μm	=	3	=	1,4 %
<u>209</u>					

SUMMENKURVEN

Versuch 7 - LPS-Zusatz

0.Std.

5,0	μm	=	10	=	7,0 %
6,0	μm	=	19	=	13,4 %
7,0	μm	=	48	=	33,8 %
8,0	μm	=	37	=	26,1 %
9,0	μm	=	24	=	16,9 %
10,0	μm	=	4	=	2,8 %
			<u>142</u>		
			===		

12 Stab/28 Seg/16 Mono

168.Std.

6,0	μm	=	8	=	3,6 %
7,0	μm	=	36	=	16,1 %
8,0	μm	=	86	=	38,6 %
9,0	μm	=	59	=	26,5 %
10,0	μm	=	25	=	11,2 %
11,0	μm	=	5	=	2,2 %
12,0	μm	=	3	=	1,3 %
13,0	μm	=	1	=	0,4 %
			<u>223</u>		
			===		

72.Std.

5,0	μm	=	1	=	0,5 %
6,0	μm	=	10	=	4,8 %
7,0	μm	=	25	=	11,9 %
8,0	μm	=	64	=	30,5 %
9,0	μm	=	71	=	33,8 %
10,0	μm	=	35	=	16,7 %
11,0	μm	=	2	=	1,0 %
12,0	μm	=	1	=	0,5 %
13,0	μm	=	1	=	0,5 %
			<u>210</u>		
			===		

120.Std.

5,0	μm	=	10	=	5,0 %
6,0	μm	=	16	=	8,0 %
7,0	μm	=	38	=	19,0 %
8,0	μm	=	46	=	23,0 %
9,0	μm	=	64	=	32,0 %
10,0	μm	=	17	=	8,5 %
11,0	μm	=	5	=	2,5 %
12,0	μm	=	3	=	1,5 %
13,0	μm	=	1	=	0,5 %
			<u>200</u>		
			===		

SUMMENKURVEN

Versuch 8 - LPS-Zusatz

0.Std.

5,0	μm	=	12	=	6,0 %
6,0	μm	=	42	=	20,9 %
7,0	μm	=	70	=	34,8 %
8,0	μm	=	46	=	22,9 %
9,0	μm	=	22	=	10,9 %
10,0	μm	=	7	=	3,5 %
11,0	μm	=	2	=	1,0 %
<u>201</u>					
<u>==</u>					

844 Seg/14 Eos/ 46 Mono

72.Std.

8,0	μm	=	19	=	9,2 %
9,0	μm	=	89	=	43,2 %
10,0	μm	=	60	=	29,1 %
11,0	μm	=	30	=	14,6 %
12,0	μm	=	8	=	3,9 %
<u>206</u>					
<u>==</u>					

120.Std.

6,0	μm	=	1	=	0,5 %
7,0	μm	=	9	=	4,3 %
8,0	μm	=	54	=	25,8 %
9,0	μm	=	90	=	43,1 %
10,0	μm	=	42	=	20,1 %
11,0	μm	=	8	=	3,8 %
13,0	μm	=	2	=	1,0 %
14,0	μm	=	2	=	1,0 %
15,0	μm	=	1	=	0,5 %
<u>209</u>					
<u>==</u>					

168.Std.

6,0	μm	=	2	=	1,0 %
7,0	μm	=	18	=	9,0 %
8,0	μm	=	34	=	16,9 %
9,0	μm	=	76	=	37,8 %
10,0	μm	=	35	=	17,4 %
11,0	μm	=	27	=	13,4 %
12,0	μm	=	6	=	3,0 %
13,0	μm	=	2	=	1,0 %
14,0	μm	=	1	=	0,5 %
<u>201</u>					
<u>==</u>					

EINZELZELLKURVEN

Versuch 1 - LPS-Zusatz

0.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 4 = 1,9 %
	6,0 μm = 36 = 17,2 %
	7,0 μm = 83 = 39,7 %
	8,0 μm = 41 = 19,6 %
	9,0 μm = 3 = 1,4 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μm = 7 = 3,3 %
	9,0 μm = 22 = 10,5 %
	10,0 μm = 12 = 5,7 %
	11,0 μm = 1 = 0,5 %
Virozyten - - - - -	9,0 μm = 2 = 0,9 %
	10,0 μm = 2 = 0,9 %

72.Std.

Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 1 = 0,5 %
	7,0 μm = 5 = 2,5 %
	8,0 μm = 4 = 2,0 %
stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 1 = 0,5 %
	8,0 μm = 14 = 6,9 %
	9,0 μm = 28 = 13,7 %
	10,0 μm = 11 = 5,4 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μm = 14 = 6,9 %
	9,0 μm = 65 = 31,9 %
	10,0 μm = 46 = 22,5 %
	11,0 μm = 10 = 4,9 %
	12,0 μm = 3 = 1,5 %
	13,0 μm = 2 = 1,0 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	8,0 μm = 5 = 2,5 %
	9,0 μm = 34 = 16,7 %
	10,0 μm = 25 = 12,3 %
	11,0 μm = 2 = 1,0 %
	12,0 μm = 1 = 0,5 %
	13,0 μm = 1 = 0,5 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 1 - LPS-Zusatz

	<u>120.Std.</u>
Lymphozyten - - - - -	5,0 μ m = 7 = 3,5 % 6,0 μ m = 14 = 6,9 % 7,0 μ m = 45 = 22,4 % 8,0 μ m = 30 = 14,9 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μ m = 13 = 6,5 % 9,0 μ m = 19 = 9,5 % 10,0 μ m = 2 = 0,9 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	7,0 μ m = 2 = 0,9 % 8,0 μ m = 14 = 6,9 % 9,0 μ m = 35 = 17,4 % 10,0 μ m = 13 = 6,5 % 11,0 μ m = 3 = 1,5 % 12,0 μ m = 2 = 0,9 % 13,0 μ m = 2 = 0,9 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	8,0 μ m = 7 = 3,5 % 9,0 μ m = 16 = 7,9 % 10,0 μ m = 1 = 0,5 % 11,0 μ m = 1 = 0,5 %

	<u>168.Std.</u>
Lymphozyten - - - - -	7,0 μ m = 16 = 6,7 % 8,0 μ m = 12 = 5,0 % 9,0 μ m = 3 = 1,3 %
stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μ m = 4 = 1,7 % 8,0 μ m = 26 = 10,9 % 9,0 μ m = 28 = 11,8 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	7,0 μ m = 2 = 0,8 % 8,0 μ m = 17 = 7,1 % 9,0 μ m = 85 = 35,7 % 10,0 μ m = 28 = 11,8 % 11,0 μ m = 11 = 4,6 % 12,0 μ m = 3 = 1,2 % 13,0 μ m = 2 = 0,8 % 14,0 μ m = 1 = 0,4 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	9,0 μ m = 12 = 5,0 % 10,0 μ m = 8 = 3,4 % 11,0 μ m = 3 = 1,3 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 1 - LPS-Zusatz

216.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μ m = 13 = 6,5 %
	6,0 μ m = 22 = 11,0 %
	7,0 μ m = 30 = 15,0 %
	8,0 μ m = 11 = 5,5 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μ m = 1 = 0,5 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μ m = 14 = 7,0 %
	9,0 μ m = 36 = 18,0 %
	10,0 μ m = 27 = 13,5 %
	11,0 μ m = 26 = 13,0 %
	12,0 μ m = 13 = 6,5 %
	13,0 μ m = 4 = 2,0 %
	14,0 μ m = 3 = 1,5 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	9,0 μ m = 3 = 2,1 %
	10,0 μ m = 3 = 2,1 %
	11,0 μ m = 6 = 4,3 %
	12,0 μ m = 3 = 2,1 %
	13,0 μ m = 2 = 1,4 %
	14,0 μ m = 1 = 0,7 %

Versuch 1 - Kontrolle

24.Std.

Lymphozyten - - - - -	6,0 μ m = 10 = 4,9 %
	7,0 μ m = 25 = 12,4 %
	8,0 μ m = 19 = 9,4 %
stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μ m = 6 = 2,9 %
	8,0 μ m = 52 = 25,7 %
	9,0 μ m = 49 = 24,3 %
	10,0 μ m = 8 = 3,9 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μ m = 5 = 2,5 %
	9,0 μ m = 14 = 6,9 %
	10,0 μ m = 12 = 5,9 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	9,0 μ m = 3 = 1,5 %
	10,0 μ m = 1 = 0,5 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 1 - Kontrolle

48.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 15 = 7,5 %
	6,0 μm = 29 = 14,4 %
	7,0 μm = 57 = 28,4 %
	8,0 μm = 46 = 22,9 %
	9,0 μm = 5 = 2,5 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μm = 18 = 8,9 %
	9,0 μm = 21 = 10,4 %
	10,0 μm = 1 = 0,5 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μm = 2 = 0,9 %
	9,0 μm = 5 = 2,5 %
	11,0 μm = 2 = 0,9 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	9,0 μm = 3 = 1,5 %

72.Std.

Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 9 = 4,3 %
	8,0 μm = 27 = 12,9 %
	9,0 μm = 12 = 5,7 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μm = 17 = 8,1 %
	9,0 μm = 37 = 17,7 %
	11,0 μm = 14 = 6,7 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μm = 12 = 5,7 %
	9,0 μm = 44 = 21,1 %
	11,0 μm = 26 = 12,4 %
	11,0 μm = 10 = 4,8 %
	12,0 μm = 1 = 0,5 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	8,0 μm = 3 = 1,4 %
	9,0 μm = 13 = 6,2 %
	10,0 μm = 8 = 3,8 %
	11,0 μm = 5 = 2,4 %
	12,0 μm = 1 = 0,5 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 1 - Kontrolle

	<u>120.Std.</u>
Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 24 = 11,7 % 7,0 μm = 76 = 36,9 % 8,0 μm = 44 = 21,4 % 9,0 μm = 6 = 2,9 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μm = 4 = 1,9 % 9,0 μm = 6 = 2,9 %
Immunoblasten, ges.	8,0 μm = 6 = 2,9 % 9,0 μm = 20 = 9,7 % 10,0 μm = 12 = 5,8 % 11,0 μm = 6 = 2,9 % 12,0 μm = 2 = 0,9 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	8,0 μm = 2 = 0,9 % 9,0 μm = 10 = 4,9 % 10,0 μm = 4 = 1,9 % 11,0 μm = 2 = 0,9 % 12,0 μm = 2 = 0,9 %

	<u>168.Std.</u>
Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 12 = 6,5 % 6,0 μm = 45 = 24,2 % 7,0 μm = 54 = 29,0 % 8,0 μm = 6 = 3,2 %
stim. Lymphozyten - - - - -	9,0 μm = 6 = 3,2 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μm = 3 = 1,6 % 9,0 μm = 30 = 16,1 % 10,0 μm = 30 = 16,1 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	9,0 μm = 3 = 1,6 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 2 - LPS-Zusatz

0.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μ m = 2 = 0,9 %
	6,0 μ m = 37 = 16,4 %
	7,0 μ m = 81 = 36,0 %
	8,0 μ m = 17 = 7,6 %
stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μ m = 21 = 9,3 %
	8,0 μ m = 40 = 17,7 %
	9,0 μ m = 21 = 9,3 %
	10,0 μ m = 6 = 2,6 %
Virozyten - - - - -	7,0 μ m = 5 = 2,2 %
	8,0 μ m = 3 = 1,3 %
	9,0 μ m = 2 = 0,9 %

72.Std.

Lymphozyten - - - - -	7,0 μ m = 6 = 2,9 %
	8,0 μ m = 45 = 22,3 %
	9,0 μ m = 72 = 35,6 %
	10,0 μ m = 15 = 7,4 %
stim. Lymphozyten - - - - -	9,0 μ m = 24 = 11,9 %
	10,0 μ m = 34 = 16,8 %
	11,0 μ m = 5 = 2,5 %
	12,0 μ m = 1 = 0,5 %

120.Std.

Lymphozyten - - - - -	6,0 μ m = 8 = 4,0 %
	7,0 μ m = 21 = 10,5 %
	8,0 μ m = 22 = 11,0 %
	9,0 μ m = 6 = 3,0 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μ m = 19 = 9,5 %
	9,0 μ m = 55 = 27,5 %
	10,0 μ m = 44 = 22,0 %
	11,0 μ m = 3 = 1,5 %
Immunoblasten, ges.	10,0 μ m = 2 = 1,0 %
	11,0 μ m = 8 = 4,0 %
	12,0 μ m = 8 = 4,0 %
	13,0 μ m = 3 = 1,5 %
	14,0 μ m = 1 = 0,5 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 2 - LPS-Zusatz

Immunoblasten, vak. - - - - -	10,0 μm = 1 = 0,5 %
	11,0 μm = 3 = 1,5 %
	12,0 μm = 5 = 2,5 %
	13,0 μm = 3 = 1,5 %
	14,0 μm = 1 = 0,5 %

168.Std.

stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μm = 29 = 15,1 %
	9,0 μm = 54 = 28,1 %
	10,0 μm = 67 = 34,9 %
	11,0 μm = 13 = 6,8 %

Immunoblasten, ges. - - - - -	11,0 μm = 3 = 1,5 %
	12,0 μm = 9 = 4,7 %
	13,0 μm = 8 = 4,2 %
	14,0 μm = 5 = 2,6 %
	15,0 μm = 4 = 2,1 %

Immunoblasten, vak. - - - - -	11,0 μm = 1 = 0,5 %
	12,0 μm = 5 = 2,6 %
	13,0 μm = 3 = 1,6 %
	14,0 μm = 1 = 0,5 %
	15,0 μm = 2 = 1,0 %

216.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 8 = 4,1 %
	6,0 μm = 24 = 12,3 %
	7,0 μm = 43 = 22,2 %
	8,0 μm = 22 = 11,3 %

stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μm = 18 = 9,3 %
	9,0 μm = 30 = 15,5 %
	10,0 μm = 4 = 2,1 %

Immunoblasten, ges. - - - - -	9,0 μm = 13 = 6,7 %
	10,0 μm = 17 = 8,8 %
	11,0 μm = 4 = 2,1 %
	12,0 μm = 4 = 2,1 %
	13,0 μm = 5 = 2,6 %
	14,0 μm = 2 = 1,0 %

Immunoblasten, vak. - - - - -	9,0 μm = 6 = 3,1 %
	10,0 μm = 9 = 4,6 %
	11,0 μm = 2 = 1,0 %
	12,0 μm = 2 = 1,0 %
	13,0 μm = 3 = 1,5 %
	14,0 μm = 1 = 0,5 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 2 - Kontrolle

48.Std.

Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 12 = 5,8 %
	8,0 μm = 57 = 27,4 %
	9,0 μm = 91 = 43,8 %
	10,0 μm = 5 = 2,4 %
stim. Lymphozytem - - - - -	9,0 μm = 18 = 8,7 %
	10,0 μm = 24 = 11,5 %
	11,0 μm = 1 = 0,5 %

72.Std.

Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 5 = 2,6 %
	8,0 μm = 38 = 20,1 %
	9,0 μm = 55 = 29,1 %
	10,0 μm = 11 = 5,8 %
stim. Lymphozyten - - - - -	9,0 μm = 28 = 14,8 %
	10,0 μm = 43 = 22,8 %
	11,0 μm = 8 = 4,2 %
Immunoblasten	9,0 μm = 1 = 0,5 %

120.Std.

Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 14 = 8,3 %
	7,0 μm = 36 = 21,4 %
	8,0 μm = 54 = 32,1 %
	9,0 μm = 22 = 13,1 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μm = 8 = 4,8 %
	9,0 μm = 18 = 11,7 %
	10,0 μm = 2 = 1,2 %
Immunoblasten - - - - -	9,0 μm = 2 = 1,2 %
	10,0 μm = 4 = 2,4 %
	11,0 μm = 4 = 2,4 %
	12,0 μm = 4 = 2,4 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 3 - LPS-Zusatz

0.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 3 = 1,6 %
	6,0 μm = 11 = 5,8 %
	7,0 μm = 26 = 13,7 %
	8,0 μm = 51 = 26,8 %
	9,0 μm = 26 = 13,7 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μm = 4 = 2,1 %
	9,0 μm = 33 = 17,4 %
	10,0 μm = 28 = 14,7 %
	11,0 μm = 7 = 3,7 %
	12,0 μm = 1 = 0,5 %
Virozyten - - - - -	7,0 μm = 1 = 0,5 %
	8,0 μm = 8 = 4,2 %
	9,0 μm = 12 = 6,3 %
	10,0 μm = 6 = 3,2 %

72.Std.

Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 1 = 0,5 %
	7,0 μm = 11 = 5,8 %
	8,0 μm = 55 = 28,8 %
	9,0 μm = 66 = 34,6 %
	10,0 μm = 26 = 13,6 %
Stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μm = 1 = 0,5 %
	9,0 μm = 4 = 2,1 %
	10,0 μm = 5 = 2,6 %
	11,0 μm = 1 = 0,5 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	9,0 μm = 4 = 2,1 %
	10,0 μm = 8 = 4,2 %
	11,0 μm = 5 = 2,6 %
	12,0 μm = 1 = 0,5 %
	13,0 μm = 2 = 1,0 %
	14,0 μm = 1 = 0,5 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	11,0 μm = 1 = 0,5 %
	14,0 μm = 1 = 0,5 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 3 - LPS-Zusatz

120.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 5 = 2,5 %
	6,0 μm = 21 = 10,5 %
	7,0 μm = 58 = 29,0 %
	8,0 μm = 58 = 29,0 %
	9,0 μm = 5 = 2,5 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μm = 20 = 10,0 %
	9,0 μm = 18 = 9,0 %
Immunoblasten - - - - -	8,0 μm = 1 = 0,5 %
	9,0 μm = 7 = 3,5 %
	10,0 μm = 5 = 2,5 %
	11,0 μm = 1 = 0,5 %
	12,0 μm = 1 = 0,5 %

168.Std.

Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 2 = 0,9 %
	7,0 μm = 5 = 2,3 %
	8,0 μm = 37 = 17,1 %
	9,0 μm = 13 = 6,0 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μm = 30 = 13,9 %
	9,0 μm = 50 = 23,1 %
	10,0 μm = 16 = 7,4 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μm = 2 = 0,9 %
	9,0 μm = 25 = 11,6 %
	10,0 μm = 34 = 15,7 %
	11,0 μm = 2 = 0,9 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	10,0 μm = 5 = 2,3 %

240.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 6 = 3,0 %
	6,0 μm = 18 = 9,0 %
	7,0 μm = 37 = 18,5 %
	8,0 μm = 20 = 10,0 %
	9,0 μm = 1 = 1,0 %
stim. Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 1 = 0,5 %
	6,0 μm = 11 = 5,5 %
	7,0 μm = 23 = 11,5 %
	8,0 μm = 19 = 9,5 %
	9,0 μm = 5 = 2,5 %

EINZELZELKURVEN

Versuch 3 - LPS-Zusatz

Immunoblasten - - - - -	8,0 μ m = 14 = 7,0 %
	9,0 μ m = 35 = 17,5 %
	10,0 μ m = 10 = 5,0 %

Versuch 3 - Kontrolle

24.Std.

Lymphozyten - - - - -	6,0 μ m = 3 = 1,5 %
	7,0 μ m = 28 = 14,0 %
	8,0 μ m = 42 = 21,0 %
	9,0 μ m = 19 = 9,5 %
stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μ m = 3 = 1,5 %
	8,0 μ m = 27 = 13,5 %
	9,0 μ m = 52 = 26,0 %
	10,0 μ m = 14 = 7,0 %
Immunoblasten, ges.	8,0 μ m = 1 = 0,5 %
	9,0 μ m = 4 = 2,0 %
	10,0 μ m = 4 = 2,0 %
	11,0 μ m = 1 = 0,5 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	9,0 μ m = 1 = 0,5 %
	10,0 μ m = 1 = 0,5 %

72.Std.

Lymphozyten - - - - -	7,0 μ m = 4 = 2,0 %
	8,0 μ m = 11 = 5,5 %
	9,0 μ m = 4 = 2,0 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μ m = 7 = 3,5 %
	9,0 μ m = 72 = 36,2 %
	10,0 μ m = 65 = 32,7 %
	11,0 μ m = 6 = 3,0 %
Immunoblasten - - - - -	8,0 μ m = 2 = 1,0 %
	9,0 μ m = 7 = 3,5 %
	10,0 μ m = 15 = 7,5 %
	11,0 μ m = 8 = 3,0 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 3 - Kontrolle

120.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 12 = 5,9 %
	6,0 μm = 21 = 10,3 %
	7,0 μm = 64 = 31,5 %
	8,0 μm = 28 = 13,8 %
	9,0 μm = 6 = 2,9 %
stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 15 = 7,4 %
	8,0 μm = 34 = 16,7 %
	9,0 μm = 13 = 6,4 %
	10,0 μm = 1 = 0,5 %
Immunoblasten - - - - -	8,0 μm = 4 = 2,0 %
	9,0 μm = 2 = 1,0 %
	10,0 μm = 1 = 0,5 %
	11,0 μm = 1 = 0,5 %
	12,0 μm = 1 = 0,5 %

168.Std.

Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 1 = 0,5 %
	7,0 μm = 11 = 5,5 %
	8,0 μm = 15 = 7,5 %
	9,0 μm = 3 = 1,5 %
stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 1 = 0,5 %
	8,0 μm = 21 = 10,5 %
	9,0 μm = 58 = 29,0 %
	10,0 μm = 7 = 3,5 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μm = 2 = 1,0 %
	9,0 μm = 29 = 14,5 %
	10,0 μm = 48 = 24,0 %
	11,0 μm = 4 = 2,0 %
Immunoblasten, vek. - - - - -	9,0 μm = 2 = 1,0 %
	10,0 μm = 3 = 1,5 %

240.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 2 = 0,9 %
	6,0 μm = 6 = 2,8 %
	7,0 μm = 18 = 8,5 %
	8,0 μm = 49 = 23,1 %
	9,0 μm = 4 = 1,9 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 3 - Kontrolle

stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μm = 28 = 13,2 %
	9,0 μm = 32 = 15,1 %
	10,0 μm = 2 = 0,9 %
Immunoblasten	8,0 μm = 9 = 4,2 %
	9,0 μm = 43 = 20,3 %
	10,0 μm = 17 = 8,0 %
	11,0 μm = 2 = 0,9 %

Versuch 4 - LPS-Zusatz

0.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 2 = 1,0 %
	6,0 μm = 6 = 3,0 %
	7,0 μm = 18 = 9,0 %
	8,0 μm = 33 = 16,4 %
	9,0 μm = 18 = 9,0 %
	10,0 μm = 3 = 1,5 %
stim. Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 7 = 3,5 %
	7,0 μm = 8 = 4,0 %
	8,0 μm = 25 = 12,4 %
	9,0 μm = 36 = 17,9 %
	10,0 μm = 30 = 14,9 %
	11,0 μm = 5 = 2,5 %
Immunoblasten - - - - -	10,0 μm = 6 = 3,0 %
	11,0 μm = 4 = 2,0 %
Virozyten	6,0 μm = 1 = 0,5 %
	8,0 μm = 1 = 0,5 %
	9,0 μm = 2 = 1,0 %
	10,0 μm = 2 = 1,0 %

72.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 2 = 1,0 %
	6,0 μm = 10 = 5,0 %
	7,0 μm = 22 = 10,9 %
	8,0 μm = 34 = 16,9 %
	9,0 μm = 18 = 9,0 %
	10,0 μm = 1 = 0,5 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 4. - LPS-Zusatz

stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 3 = 1,5 %
"	8,0 μm = 31 = 15,4 %
	9,0 μm = 44 = 21,9 %
	10,0 μm = 12 = 6,0 %
	11,0 μm = 1 = 0,5 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μm = 1 = 0,5 %
	9,0 μm = 6 = 3,0 %
	10,0 μm = 11 = 5,5 %
	11,0 μm = 4 = 2,0 %
	12,0 μm = 1 = 0,5 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	8,0 μm = 1 = 0,5 %
	9,0 μm = 3 = 1,5 %
	10,0 μm = 5 = 2,5 %
	11,0 μm = 2 = 1,0 %
	12,0 μm = 1 = 0,5 %

120.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 1 = 0,5 %
	6,0 μm = 3 = 1,5 %
	7,0 μm = 9 = 4,5 %
	8,0 μm = 18 = 9,0 %
	9,0 μm = 5 = 2,5 %
stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 1 = 0,5 %
	8,0 μm = 27 = 13,4 %
	9,0 μm = 55 = 27,4 %
	10,0 μm = 6 = 3,0 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μm = 9 = 4,5 %
	9,0 μm = 24 = 11,9 %
	10,0 μm = 37 = 18,4 %
	11,0 μm = 7 = 3,5 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	8,0 μm = 1 = 0,5 %
	9,0 μm = 7 = 3,5 %
	10,0 μm = 14 = 7,0 %
	11,0 μm = 4 = 2,0 %

168.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 4 = 2,0 %
	6,0 μm = 33 = 16,3 %
	7,0 μm = 51 = 25,2 %
	8,0 μm = 36 = 17,8 %
	9,0 μm = 3 = 1,5 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 4 - LPS-Zusatz

stim. Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 4 = 2,0 %
	7,0 μm = 10 = 5,0 %
	8,0 μm = 34 = 16,8 %
	9,0 μm = 21 = 10,4 %
	10,0 μm = 3 = 1,5 %
Immunoblasten - - - - -	9,0 μm = 2 = 1,0 %
	10,0 μm = 1 = 0,5 %

Versuch 4 - Kontrolle

24.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 2 = 1,0 %
	6,0 μm = 19 = 9,3 %
	7,0 μm = 28 = 13,7 %
	8,0 μm = 33 = 16,1 %
	9,0 μm = 21 = 10,2 %
	10,0 μm = 4 = 2,0 %
stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 2 = 1,0 %
	8,0 μm = 15 = 7,3 %
	9,0 μm = 37 = 18,0 %
	10,0 μm = 30 = 14,6 %
	11,0 μm = 8 = 3,9 %
Immunoblasten - - - - -	9,0 μm = 1 = 0,5 %
	10,0 μm = 1 = 0,5 %
	11,0 μm = 2 = 1,0 %
	12,0 μm = 2 = 1,0 %

72.Std.

Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 4 = 2,0 %
	7,0 μm = 28 = 13,9 %
	8,0 μm = 12 = 5,9 %
	9,0 μm = 4 = 2,0 %
stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 6 = 3,0 %
	8,0 μm = 46 = 22,8 %
	9,0 μm = 55 = 27,2 %
	10,0 μm = 30 = 14,9 %
	11,0 μm = 1 = 0,5 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	9,0 μm = 1 = 0,5 %
	10,0 μm = 6 = 3,0 %
	11,0 μm = 6 = 3,0 %
	12,0 μm = 2 = 1,0 %
	13,0 μm = 1 = 0,5 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 4 - Kontrolle

Immunoblasten, vak. - - - - -
10,0 μm = 1 = 0,5 %
11,0 μm = 2 = 1,0 %

120.Std.

Lymphozyten - - - - -
5,0 μm = 13 = 6,3 %
6,0 μm = 21 = 10,1 %
7,0 μm = 33 = 15,9 %
8,0 μm = 26 = 12,6 %
9,0 μm = 4 = 1,9 %

stim. Lymphozyten - - - - -
7,0 μm = 6 = 2,9 %
8,0 μm = 36 = 17,4 %
9,0 μm = 48 = 23,2 %
10,0 μm = 8 = 3,9 %

Immunoblasten, ges. - - - - -
9,0 μm = 1 = 0,5 %
10,0 μm = 6 = 2,9 %
11,0 μm = 2 = 1,0 %
12,0 μm = 1 = 0,5 %
13,0 μm = 1 = 0,5 %
14,0 μm = 1 = 0,5 %

Immunoblasten, vak. - - - - -
10,0 μm = 1 = 0,5 %
14,0 μm = 1 = 0,5 %

168.Std.

Lymphozyten - - - - -
6,0 μm = 2 = 1,0 %
7,0 μm = 21 = 10,3 %
8,0 μm = 22 = 10,8 %
9,0 μm = 4 = 2,0 %

stim. Lymphozyten - - - - -
7,0 μm = 4 = 2,0 %
8,0 μm = 35 = 17,2 %
9,0 μm = 72 = 35,5 %
10,0 μm = 16 = 7,9 %

Immunoblasten, ges. - - - - -
9,0 μm = 6 = 3,0 %
10,0 μm = 14 = 6,9 %
11,0 μm = 4 = 2,0 %
12,0 μm = 2 = 1,0 %
13,0 μm = 1 = 0,5 %

Immunoblasten, vak. - - - - -
12,0 μm = 1 = 0,5 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 5 - LPS-Zusatz

0.Std.

Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 2 = 1,0 %
	7,0 μm = 20 = 10,0 %
	8,0 μm = 34 = 17,0 %
	9,0 μm = 16 = 8,0 %
stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 5 = 2,5 %
	8,0 μm = 34 = 17,0 %
	9,0 μm = 51 = 25,5 %
	10,0 μm = 26 = 13,0 %
	11,0 μm = 4 = 2,0 %
Immunoblasten - - - - -	8,0 μm = 1 = 0,5 %
	9,0 μm = 2 = 1,0 %
	10,0 μm = 3 = 1,5 %
	11,0 μm = 2 = 1,0 %

72.Std.

Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 10 = 4,9 %
	7,0 μm = 15 = 7,4 %
	8,0 μm = 8 = 3,9 %
stim. Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 2 = 1,0 %
	7,0 μm = 21 = 10,3 %
	8,0 μm = 59 = 29,1 %
	9,0 μm = 12 = 5,9 %
Immunoblasten, ges. - - - -	8,0 μm = 11 = 5,4 %
	9,0 μm = 51 = 25,1 %
	10,0 μm = 12 = 5,9 %
	11,0 μm = 2 = 1,0 %
Immunoblasten, vak. - - - -	10,0 μm = 1 = 0,5 %
	11,0 μm = 2 = 1,0 %

144.Std.

Lymphozyten - - - - -	4,0 μm = 1 = 0,5 %
	5,0 μm = 8 = 4,0 %
	6,0 μm = 13 = 6,5 %
	7,0 μm = 20 = 10,0 %
	8,0 μm = 11 = 5,5 %

EINZELZELKURVEN

Versuch 5 - LPS-Zusatz

stim. Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 3 = 1,5 %
	7,0 μm = 11 = 5,5 %
	8,0 μm = 25 = 12,4 %
	9,0 μm = 22 = 10,9 %
	10,0 μm = 3 = 1,5 %

Immunoblasten - - - - -	8,0 μm = 17 = 8,5 %
	9,0 μm = 43 = 21,4 %
	10,0 μm = 21 = 10,4 %
	11,0 μm = 3 = 1,5 %

192.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 6 = 2,9 %
	6,0 μm = 20 = 9,7 %
	7,0 μm = 49 = 23,7 %
	8,0 μm = 25 = 12,1 %
	9,0 μm = 1 = 0,5 %

stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 2 = 1,0 %
	8,0 μm = 18 = 8,7 %
	9,0 μm = 13 = 6,3 %

Immunoblasten - - - - -	8,0 μm = 26 = 12,6 %
	9,0 μm = 41 = 19,8 %
	10,0 μm = 6 = 2,9 %

240.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 2 = 1,0 %
	6,0 μm = 11 = 5,5 %
	7,0 μm = 19 = 9,5 %
	8,0 μm = 19 = 9,5 %
	9,0 μm = 1 = 0,5 %

stim. Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 2 = 1,0 %
	6,0 μm = 8 = 4,0 %
	7,0 μm = 10 = 5,0 %
	8,0 μm = 28 = 13,9 %
	9,0 μm = 12 = 6,0 %
	10,0 μm = 2 = 1,0 %

Immunoblasten - - - - -	8,0 μm = 13 = 6,5 %
	9,0 μm = 50 = 24,9 %
	10,0 μm = 23 = 11,4 %
	11,0 μm = 1 = 0,5 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 5 - Kontrolle

24.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μ m = 4 = 2,0 %
	6,0 μ m = 25 = 12,4 %
	7,0 μ m = 56 = 27,7 %
	8,0 μ m = 32 = 15,8 %
	9,0 μ m = 4 = 2,0 %
stim. Lymphozyten - - - - -	6,0 μ m = 5 = 2,5 %
	7,0 μ m = 6 = 3,0 %
	8,0 μ m = 28 = 13,9 %
	9,0 μ m = 20 = 9,9 %
	10,0 μ m = 1 = 0,5 %
Immunoblasten - - - - -	7,0 μ m = 1 = 0,5 %
	8,0 μ m = 6 = 3,0 %
	9,0 μ m = 6 = 3,0 %
	10,0 μ m = 5 = 2,5 %
	11,0 μ m = 2 = 1,0 %
	12,0 μ m = 1 = 0,5 %

48.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μ m = 4 = 2,0 %
	6,0 μ m = 32 = 15,7 %
	7,0 μ m = 55 = 27,0 %
	8,0 μ m = 36 = 17,6 %
	9,0 μ m = 5 = 2,5 %
	10,0 μ m = 1 = 0,5 %
stim. Lymphozyten - - - - -	6,0 μ m = 5 = 2,5 %
	7,0 μ m = 14 = 6,9 %
	8,0 μ m = 35 = 17,2 %
	9,0 μ m = 5 = 2,5 %
Immunoblasten - - - - -	8,0 μ m = 7 = 3,4 %
	9,0 μ m = 4 = 2,0 %
	10,0 μ m = 1 = 0,5 %

72.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μ m = 9 = 4,4 %
	6,0 μ m = 16 = 7,8 %
	7,0 μ m = 33 = 16,1 %
	8,0 μ m = 31 = 15,1 %
	9,0 μ m = 1 = 0,5 %
stim. Lymphozyten - - - - -	5,0 μ m = 6 = 2,9 %
	6,0 μ m = 8 = 3,9 %
	7,0 μ m = 17 = 8,3 %
	8,0 μ m = 40 = 19,5 %
	9,0 μ m = 10 = 4,9 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 5 - Kontrolle

Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μm = 3 = 1,5 %
	9,0 μm = 26 = 12,7 %
	10,0 μm = 5 = 2,4 %

Immunoblasten, vak. - - - - -	9,0 μm = 4 = 2,0 %
	10,0 μm = 1 = 0,5 %

Versuch 6 - LPS-Zusatz

0.Std.

Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 2 = 1,0 %
	7,0 μm = 33 = 16,4 %
	8,0 μm = 61 = 30,3 %
	9,0 μm = 33 = 16,4 %

stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 2 = 1,0 %
	8,0 μm = 15 = 7,5 %
	9,0 μm = 38 = 18,9 %
	10,0 μm = 15 = 7,5 %
	11,0 μm = 2 = 1,0 %

Virozyten - - - - -	8,0 μm = 3 = 1,5 %
	9,0 μm = 7 = 3,5 %
	10,0 μm = 4 = 2,0 %

72.Std.

nicht auswertbar wegen
technischen "Defektes"

120.Std.

Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 3 = 1,4 %
	7,0 μm = 9 = 4,1 %
	8,0 μm = 14 = 6,4 %
	9,0 μm = 2 = 0,9 %

stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 5 = 2,3 %
	8,0 μm = 58 = 26,5 %
	9,0 μm = 55 = 25,1 %
	10,0 μm = 15 = 6,8 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 6 - LPS-Zusatz

Immunoblasten, ges. - - - - -	$8,0 \mu\text{m} = 2 = 0,9 \%$ $9,0 \mu\text{m} = 18 = 8,2 \%$ $10,0 \mu\text{m} = 20 = 9,1 \%$ $11,0 \mu\text{m} = 12 = 5,5 \%$ $12,0 \mu\text{m} = 3 = 1,4 \%$ $13,0 \mu\text{m} = 1 = 0,5 \%$ $14,0 \mu\text{m} = 1 = 0,5 \%$ $15,0 \mu\text{m} = 1 = 0,5 \%$
Immunoblasten, vak. - - - - -	$10,0 \mu\text{m} = 3 = 1,4 \%$ <u>160.Std.</u>
Lymphozyten - - - - -	$7,0 \mu\text{m} = 2 = 1,0 \%$ $8,0 \mu\text{m} = 14 = 6,9 \%$ $9,0 \mu\text{m} = 7 = 3,4 \%$
stim. Lymphozyten - - - - -	$8,0 \mu\text{m} = 11 = 5,4 \%$ $9,0 \mu\text{m} = 75 = 36,9 \%$ $10,0 \mu\text{m} = 19 = 9,4 \%$
Immunoblasten, ges. - - - - -	$8,0 \mu\text{m} = 1 = 0,5 \%$ $9,0 \mu\text{m} = 15 = 7,4 \%$ $10,0 \mu\text{m} = 35 = 17,2 \%$ $11,0 \mu\text{m} = 17 = 8,4 \%$ $12,0 \mu\text{m} = 3 = 1,5 \%$ $13,0 \mu\text{m} = 2 = 1,0 \%$ $14,0 \mu\text{m} = 1 = 0,5 \%$ $15,0 \mu\text{m} = 1 = 0,5 \%$
Immunoblasten, vak. - - - - -	$9,0 \mu\text{m} = 1 = 0,5 \%$ $10,0 \mu\text{m} = 2 = 1,0 \%$ $15,0 \mu\text{m} = 1 = 0,5 \%$ <u>240.Std.</u>
Lymphozyten - - - - -	$5,0 \mu\text{m} = 2 = 1,0 \%$ $6,0 \mu\text{m} = 9 = 4,4 \%$ $7,0 \mu\text{m} = 14 = 6,8 \%$ $8,0 \mu\text{m} = 11 = 5,4 \%$ $9,0 \mu\text{m} = 5 = 2,4 \%$

EINZELZELLKURVEN

Versuch 6 - LPS-Zusatz

stim. Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 2 = 1,0 %
	6,0 μm = 5 = 2,4 %
	7,0 μm = 14 = 6,8 %
	8,0 μm = 56 = 27,3 %
	9,0 μm = 51 = 24,9 %
	10,0 μm = 7 = 3,4 %
Immunoblasten - - - - -	9,0 μm = 9 = 4,4 %
	10,0 μm = 12 = 5,9 %
	11,0 μm = 8 = 3,9 %

Versuch 6 - Kontrolle

24.Std.

Lymphozyten	5,0 μm = 1 = 0,5 %
	6,0 μm = 1 = 0,5 %
	7,0 μm = 4 = 2,0 %
	8,0 μm = 6 = 3,0 %
	9,0 μm = 6 = 3,0 %
stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 4 = 2,0 %
	8,0 μm = 35 = 17,4 %
	9,0 μm = 80 = 39,8 %
	10,0 μm = 40 = 19,9 %
	11,0 μm = 3 = 1,5 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μm = 1 = 0,5 %
	9,0 μm = 2 = 1,0 %
	10,0 μm = 8 = 4,0 %
	11,0 μm = 9 = 4,5 %
	12,0 μm = 1 = 0,5 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	11,0 μm = 2 = 1,0 %

72.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 3 = 1,4 %
	6,0 μm = 7 = 3,3 %
	7,0 μm = 17 = 8,1 %
	8,0 μm = 62 = 29,7 %
	9,0 μm = 19 = 9,1 %
	10,0 μm = 2 = 1,0 %

EINZELZELKURVEN

Versuch 6 - Kontrolle

stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 5 = 2,4 %
	8,0 μm = 32 = 15,3 %
	9,0 μm = 39 = 18,7 %
	10,0 μm = 18 = 8,6 %
	11,0 μm = 2 = 1,0 %
Immunoblasten - - - - -	9,0 μm = 2 = 1,0 %
	11,0 μm = 1 = 0,5 %

Versuch 7 - LPS-Zusatz

0.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 10 = 7,6 %
	6,0 μm = 19 = 13,4 %
	7,0 μm = 48 = 33,8 %
	8,0 μm = 12 = 8,5 %
	9,0 μm = 3 = 2,1 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μm = 25 = 17,6 %
	9,0 μm = 21 = 14,8 %
	10,0 μm = 4 = 2,8 %
Virozyten - - - - -	8,0 μm = 6 = 4,2 %
	9,0 μm = 3 = 2,1 %

72.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 1 = 0,5 %
	6,0 μm = 10 = 4,8 %
	7,0 μm = 25 = 11,9 %
	8,0 μm = 50 = 23,8 %
	9,0 μm = 20 = 9,5 %
	10,0 μm = 1 = 0,5 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μm = 13 = 6,2 %
	9,0 μm = 29 = 13,8 %
	10,0 μm = 10 = 4,8 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μm = 1 = 0,5 %
	9,0 μm = 22 = 10,5 %
	10,0 μm = 24 = 11,4 %
	11,0 μm = 2 = 1,0 %
	12,0 μm = 1 = 0,5 %
	13,0 μm = 1 = 0,5 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 7 - LPS-Zusatz

Immunoblasten, vak. - - - - -	9,0 μ m = 10 = 4,8 %
	10,0 μ m = 9 = 4,3 %
	11,0 μ m = 1 = 0,5 %
	12,0 μ m = 1 = 0,5 %

120.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μ m = 10 = 5,0 %
	6,0 μ m = 16 = 8,0 %
	7,0 μ m = 38 = 19,0 %
	8,0 μ m = 33 = 16,5 %
	9,0 μ m = 12 = 6,0 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μ m = 5 = 2,5 %
	9,0 μ m = 10 = 5,0 %
	10,0 μ m = 1 = 0,5 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μ m = 8 = 4,0 %
	9,0 μ m = 42 = 21,0 %
	10,0 μ m = 16 = 8,0 %
	11,0 μ m = 5 = 2,5 %
	12,0 μ m = 3 = 1,5 %
	13,0 μ m = 1 = 0,5 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	8,0 μ m = 1 = 0,5 %
	9,0 μ m = 9 = 4,5 %
	10,0 μ m = 3 = 1,5 %

168.Std.

Lymphozyten - - - - -	6,0 μ m = 8 = 3,6 %
	7,0 μ m = 36 = 16,1 %
	8,0 μ m = 68 = 30,5 %
	9,0 μ m = 13 = 5,8 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μ m = 2 = 0,9 %
	9,0 μ m = 5 = 2,2 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μ m = 16 = 7,2 %
	9,0 μ m = 41 = 18,4 %
	10,0 μ m = 25 = 11,2 %
	11,0 μ m = 5 = 2,2 %
	12,0 μ m = 3 = 1,3 %
	13,0 μ m = 1 = 0,4 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 7 - LPS-Zusatz

Immunoblasten, vak. - - - - -	8,0 μm = 2 = 0,9 %
	9,0 μm = 8 = 3,6 %
	10,0 μm = 7 = 3,1 %
	11,0 μm = 2 = 0,9 %
	12,0 μm = 1 = 0,4 %

Versuch 8 - LPS-Zusatz

0.Std.

Lymphozyten - - - - -	5,0 μm = 12 = 6,0 %
	6,0 μm = 40 = 19,9 %
	7,0 μm = 58 = 28,9 %
	8,0 μm = 23 = 11,4 %
	9,0 μm = 11 = 5,5 %
stim. Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 2 = 1,0 %
	7,0 μm = 12 = 6,0 %
	8,0 μm = 23 = 11,4 %
	9,0 μm = 11 = 5,5 %
	10,0 μm = 7 = 3,5 %
	11,0 μm = 2 = 1,0 %
Virozyten - - - - -	7,0 μm = 7 = 3,5 %
	8,0 μm = 5 = 2,5 %
	9,0 μm = 2 = 1,0 %
	10,0 μm = 1 = 0,5 %

72.Std.

Lymphozyten - - - - -	8,0 μm = 4 = 1,9 %
	9,0 μm = 3 = 1,5 %
stim. Lymphozyten - - - - -	8,0 μm = 13 = 6,3 %
	9,0 μm = 63 = 30,6 %
	10,0 μm = 25 = 12,1 %
	11,0 μm = 4 = 1,9 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μm = 2 = 1,0 %
	9,0 μm = 23 = 11,2 %
	10,0 μm = 35 = 17,0 %
	11,0 μm = 26 = 12,6 %
	12,0 μm = 8 = 3,9 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	10,0 μm = 5 = 2,4 %
	11,0 μm = 6 = 2,9 %
	12,0 μm = 3 = 1,5 %

EINZELZELLKURVEN

Versuch 8 - LPS-Zusatz

120.Std.

Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 1 = 0,5 %
	7,0 μm = 5 = 2,4 %
	8,0 μm = 20 = 9,6 %
	9,0 μm = 8 = 3,8 %
	10,0 μm = 1 = 0,5 %
stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 4 = 1,9 %
	8,0 μm = 34 = 16,3 %
	9,0 μm = 72 = 34,4 %
	10,0 μm = 13 = 6,2 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	9,0 μm = 10 = 4,8 %
	10,0 μm = 28 = 13,4 %
	11,0 μm = 8 = 3,8 %
	13,0 μm = 2 = 1,0 %
	14,0 μm = 2 = 1,0 %
	15,0 μm = 1 = 0,5 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	9,0 μm = 4 = 1,9 %
	10,0 μm = 9 = 4,3 %
	11,0 μm = 2 = 1,0 %
	13,0 μm = 2 = 1,0 %
	15,0 μm = 1 = 0,5 %

168.Std.

Lymphozyten - - - - -	6,0 μm = 2 = 1,0 %
	7,0 μm = 8 = 4,0 %
	8,0 μm = 13 = 6,5 %
	9,0 μm = 7 = 3,5 %
stim. Lymphozyten - - - - -	7,0 μm = 10 = 5,0 %
	8,0 μm = 20 = 10,0 %
	9,0 μm = 53 = 26,4 %
	10,0 μm = 11 = 5,5 %
Immunoblasten, ges. - - - - -	8,0 μm = 1 = 0,5 %
	9,0 μm = 16 = 8,0 %
	10,0 μm = 24 = 11,9 %
	11,0 μm = 27 = 13,4 %
	12,0 μm = 6 = 3,0 %
	13,0 μm = 2 = 1,0 %
	14,0 μm = 1 = 0,5 %
Immunoblasten, vak. - - - - -	9,0 μm = 5 = 2,5 %
	10,0 μm = 8 = 4,0 %
	11,0 μm = 6 = 3,0 %
	12,0 μm = 3 = 1,5 %
	13,0 μm = 2 = 1,0 %

ERGEBNISSE DER STATISTISCHEN BERECHNUNGEN

Berechnungen der signifikanten Differenz SD :

Versuch 1

Zeitp.	$\bar{X}$ - Kontr.	SD	$\bar{X}$ - Zusatz
0. Std.	7,45 μm	-	7,45 μm
24. Std.	8,26 μm	-	-
48. Std.	7,39 μm	-	-
72. Std.	8,95 μm	-2,95	9,23 μm
120. Std.	7,80 μm	-2,13	8,08 μm
168. Std.	7,55 μm	-9,92	8,09 μm
216. Std.	-	-	8,75 μm

Versuch 2

Zeitp.	$\bar{X}$ - Kontr.	SD	$\bar{X}$ - Zusatz
0. Std.	7,34 μm	-	7,34 μm
48. Std.	8,73 μm	-	-
72. Std.	9,12 μm	1,05	9,03 μm
120. Std.	8,11 μm	-6,28	9,01 μm
168. Std.	-	-	9,03 μm
216. Std.	-	-	8,18 μm

Versuch 3

Zeitp.	$\bar{X}$ - Kontr.	SD	$\bar{X}$ - Zusatz
0. Std.	8,44 μm	-	8,44 μm
24. Std.	8,40 μm	-	-
72. Std.	9,38 μm	4,54	8,93 μm
120. Std.	7,38 μm	-2,52	7,66 μm
168. Std.	8,99 μm	1,53	8,86 μm
240. Std.	8,41 μm	7,43	7,61 μm

Versuch 4

Zeitp.	$\bar{X}$ - Kontr.	SD	$\bar{X}$ - Zusatz
0. Std.	8,50 μm	-	8,50 μm
24. Std.	8,45 μm	-	-
72. Std.	8,61 μm	1,65	8,42 μm
120. Std.	7,91 μm	-7,56	8,85 μm
168. Std.	8,60 μm	7,68	7,84 μm

Ein Minuszeichen bei der SD bedeutet, daß $\bar{X}$ - Zusatz größer ist als $\bar{X}$ - Kontrolle !

Versuch 5

Zeitp.	$\bar{X}$ - Kontr.	SD	$\bar{X}$ - Zusatz
0. Std.	8,58 μm	-	8,58 μm
24. Std.	7,59 μm	-	-
48. Std.	7,33 μm	-	-
72. Std.	7,53 μm	-5,74	8,16 μm
144. Std.	-	-	8,15 μm
192. Std.	-	-	7,80 μm
240. Std.	-	-	8,18 μm

Berechnungen mit dem χ^2 -Test :

Versuch 1

72. Std.	$\chi^2 = 24,45$	$\hat{=}$	$P \approx 1 \cdot 10^{-6}$	(+)
120. Std.	$\chi^2 = 20,23$	$\hat{=}$	$P \approx 1 \cdot 10^{-5}$	(+)
160. Std.	$\chi^2 = 34,48$	$\hat{=}$	$P \approx 1 \cdot 10^{-9}$	(+)

Versuch 2

72. Std.	$\chi^2 = 1,07$	$\hat{=}$	$P = 0,3$	(-)
120. Std.	$\chi^2 = 0,74$	$\hat{=}$	$P = 0,36$	(-)

Versuch 3

72. Std.	$\chi^2 = 1,41$	$\hat{=}$	$P = 0,22$	(-)
120. Std.	$\chi^2 = 1,69$	$\hat{=}$	$P = 0,19$	(+)
160. Std.	$\chi^2 = 6,94$	$\hat{=}$	$P = 0,0085$	(-)
240. Std.	$\chi^2 = 0,76$	$\hat{=}$	$P = 0,38$	(-)

Versuch 4

72. Std.	$\chi^2 = 1,43$	$\hat{=}$	$P = 0,23$	(+)
120. Std.	$\chi^2 = 116,8$	$\hat{=}$	$P < 1 \cdot 10^{-10}$	(+)
168. Std.	$\chi^2 = 20,61$	$\hat{=}$	$P < 1 \cdot 10^{-5}$	(-)

Versuch 5

72. Std.	$\chi^2 = 22,52$	$\hat{=}$	$P < 1 \cdot 10^{-5}$	(+)
----------	------------------	-----------	-----------------------	-----

Ein + -Zeichen in Klammern bedeutet mehr Immunoblasten in der LPS-Kultur, ein - Zeichen weniger. Wenn $P < 0,01$ ist die Differenz statistisch einigermaßen sicher, ab $P = 0,0027$ ist sie gut gesichert !

IX BIBLIOGRAPHIE

Dissertationen :

1. MONTAG

Persönliche Mitteilung/Dissertation in Arbeit
Berlin (1976)

2. JÖNASSON, J.

Kernmessungen an Phytohämagglutinininkulturen
Berlin (1973)

Artikel :

3. SHEPPARD, HAYNES W. Jr.; REDELMAN, DOUG; SELL, STEWART

"in vitro" Studies of the Rabbit Immune System
IV. Differential Mitogen Responses of Isolated T and
B Cells.
Cellular Immunology, 24: 34-44 (1976)

4. MICHLMAYR, G.; HUBER, C.; BRAUNSTEINER, H.; HUBER, H.

Insoluble PHA - A B-Cell Mitogen in Man ?
Acta haemat., 53: 30-36 (1975)

5. ZEILLER, K. und Mitarbeiter

Entwicklungsreihe der T-Lymphozyten aufgeklärt
Ärztliche Praxis, XXVI. Jahrgang, Nr. 53: 2510 (1974)

6. BOLL, I.; KÜTTER, R. u. AUST, CH.

Die Phytohämagglutinininkultur als Test zur Verlaufskontrolle
lympho-proliferativer Erkrankungen
Deutsch.med. Wschr., 99: 678 (1974)

7. RÜHL, H.; VOGT, W.; BOCHERT, G.; DIAMANTSTEIN, T.

Stimulation of B cells by poly A : poly U and
poly I : poly C "in vitro"
Immunology, 26: 937-941 (1974)

8. WILLIAMS, R.C. Jr.; DEBOARD, J.R.; MELLBYE, O.J.
MESSNER, R.P.; LINDSTRÖM, F.D.

Studies of T- and B-Lymphocytes in Patients with
Connective Tissue Diseases
The Journ. of Clin. Invest., 52: 283-295 (1973)

9. DIAMANTSTEIN, T.; VOGT, W.; RÜHL, H.; BOCHERT, G.

Stimulation of DNA synthesis in mouse lymphoid cells by polyanions "in vitro".

I. Target cells and possible mode of action

Eur. J. Immunol., 3: 488-493 (1973)

10. VOGT, W.; RÜHL, H.; WAGNER, B.; DIAMANTSTEIN, T.

Stimulation of DNA synthesis "in vitro".

II. Relationship between adjuvant activity and

stimulation of DNA synthesis by polyanions⁺

REPRINT Eur. J. Immunol. 3: No. 8 (1973)

11. DIAMANTSTEIN, T.; RÜHL, H.; VOGT, W.; BOCHERT, G.

Stimulation of B-cells by Dextran Sulphate "in vitro".

BRIEF COMMUNICATION, Immunology, 25: 743 (1973)

12. TACHIBANA, T.; ISHIKAWA, M.

A New Micro-method for Quantitation of Human T- and B-lymphocytes.

Japan. J. Exp. Med., 43,3: 227-230 (1973)

13. ELFENBEIN, G.J.; HARRISON, M.R.; GREEN, I.

Demonstration of Proliferation by bone marrow-derived lymphocytes of Guinea Pigs, Mice and Rabbits in response to Mitogen Stimulation "in vitro".

The Journal of Immunology, 110: No. 5, 1334-1339 (1973)

14. DOUGLAS, S.D.

Electron Microscopic and Functional Aspects of Human Lymphocyte Response to Mitogens.

Transplant. Rev., 11: 39-59 (1972)

15. GREAVES, M.; JANDOSSY, G.

Elicitation of Selective T and B Lymphocyte Responses by Cell Surface Binding Ligands

Transplant. Rev., 11: 87-130 (1972)

16. ANDERSSON, J.; SJÖBERG, O.; MÜLLER, G.

Mitogens as Probes for Immunocyte Activation and Cellular Cooperation.

Transplant. Rev., 11: 131-177 (1972)

17. JANOSSY, G.; SHOHAT, M.; GREAVES, M.F.; DOURMASHKIN, R.R.

Lymphocyte Activation

IV. The ultrastructural pattern of the Response of
Mouse T and B Cells to mitogenic Stimulation "in vitro".
Immunology, 24: 211-227 (1972)

18. GERY, I.; KRÜGER, J.; SPIESEL, S.Z.

Stimulation of B-Lymphocytes by Endotoxin
Reactions of Thymus-Deprived Mice and Karyotypic Analysis
of Dividing Cells in Mice Bearing T₆T₆ Thymus Grafts.
The Journal of Immunology, 108: No. 6, 1088-1091 (1972)

19. GREAVES, M.F.; BAUMINGER, S.

Activation of T and B Lymphocytes by Insoluble Phytoantigens.
Nature New Biology, 235: 67-69 (1972)

20. WILSON, J.D.; NOSSAL, G.J.V.

Identification of Human T and B Lymphocytes in normal peripheral Blood and in Chronic Lymphocytic Leukaemia.
The Lancet, October 9: 788-791 (1971)

21. PEAVY, D.I.; ADLER, W.H.; SMITH, R.T.

The mitogenic Effects of Endotoxin and Staphylococcal Enterotoxin B on Mouse Spleen Cells and Human Peripheral Lymphocytes.
The Journal of Immunology, 105: No. 6, 1453-1458 (1970)

22. MÜLLER, G.

Induction of DNA Synthesis in Human Lymphocytes :
Interaction between Non-specific Mitogens and Antigens.
Immunology, 19: 583-598 (1970)

23. RAPOPORT, S.M.

Medizinische Biochemie
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1969

24. RAFTER, G.W.

Leucocytic Pyrogen generated by Endotoxin.
Nature, 222: No. 5192, 490-491 (1969)

25. OPPENHEIM, J.J.; PERRY, S.

Effects of Endotoxins on Cultured Leukocytes.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 118: 1014-1019 (1965)

26. WENDT, F.

Über die Pathogenese des Fiebers
Weitere Untersuchungen zur Entstehungsweise des
sekundären, endogenen Pyrogens beim Menschen.
Aus
Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für
innere Medizin, 68. Kongreß (1962)

27. WENDT, F.

Untersuchungen über die Pathogenese des Fiebers
beim Menschen
Aus
Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für
innere Medizin, 66. Kongreß (1960)

28. BELITZ, H.J.

Die Anwendung statistischer Methoden in der Biologie
Aus
"Der Mathematikunterricht", 3: 82-103 (1960)

29. RERABEK, J.; RERABEK, E.

Leitfaden der Gewebezüchtung
Anhang : mathematische Behandlung der Kultivations=
ergebnisse
VEB Gustav Fischer Verlag, 287-295, Jena (1960)

X NACHWORT

Mein herzlicher und aufrichtiger Dank gilt Frau Professor Dr. Boll für die Überlassung des Themas sowie für die immer hilfreiche und großzügige Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Ein Dankeschön auch an ihre Assistentinnen, die mir bei der praktischen Durchführung der Versuche wertvolle Hilfe leisteten.

XI LEBENSLAUF

Ich wurde am 29. November 1948 in Neumünster geboren ; meine Eltern sind der jetzige Dental-Kaufmann Gustav Hübner und seine Frau Beate, geb. Heeschen.

Ostern 1954 wurde ich in die hiesige Theodor-Storm-Schule eingeschult, 1959 in die Holstenschule aufgenommen. Nach Wahl des mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweiges dieser Schule bestand ich im Juni 1967 das Abitur.

Im November 1967 wurde ich an der "Freien Universität Berlin" immatrikuliert und bestand nach 10 Semestern das Staatsexamen mit der Note "gut".

Am 1. April 1973 nahm ich eine Tätigkeit als zahnärztlicher Assistent in einer Praxis in Berlin auf.

Am 27. März 1975 heiratete ich meine Frau Hilke, geb. Wiebensohn, und am 15. April 1975 eröffnete ich meine eigene Praxis in Neumünster. Am 25. August 1976 wurde meine Tochter Ulrike geboren.

